

Tesis de Posgrado

Desórdenes en el metabolismo del hemo : Estudios sobre el carácter hereditario de la porfiria cutánea tarda y la porfiria aguda intermitente

Parera, Victoria Estela

1985

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Parera, Victoria Estela. (1985). Desórdenes en el metabolismo del hemo : Estudios sobre el carácter hereditario de la porfiria cutánea tarda y la porfiria aguda intermitente. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1948_Parera.pdf

Cita tipo Chicago:

Parera, Victoria Estela. "Desórdenes en el metabolismo del hemo : Estudios sobre el carácter hereditario de la porfiria cutánea tarda y la porfiria aguda intermitente". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1985.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_1948_Parera.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

Buenos Aires
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

**DESORDENES EN EL METABOLISMO DEL HEMO.
ESTUDIOS SOBRE EL CARÁCTER HEREDITARIO DE LA
PORFIRIA CUTANEA TÁRTARICA Y LA PORFIRIA AGUDA**

VICTORIA ESTELA PARERA



**TESIS 1985
TOMO I**

DESORDENES EN EL METABOLISMO DEL HEMO.
ESTUDIOS SOBRE EL CARACTER HEREDITARIO DE LA
PORFIRIA CUTANEA TARDA Y LA PORFIRIA AGUDA INTERMITENTE

por

VICTORIA ESTELA PARERA

Tesis presentada para optar al título de
DOCTOR EN CIENCIAS QUIMICAS de la
UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

DIRECTOR: Dra. Ana María Stella de Rosellini

Centro de Investigaciones sobre Porfirinas y Porfirias (CIPYP)

Departamento de Química Biológica. Facultad de Ciencias
Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

1 9 8 5

Tesis 1948
v. 1
ej. 2

a mis padres

a mi esposo

a mis hijos

I N D I C E G E N E R A L

TOMO I

	Página
AGRADECIMIENTOS	i
ABREVIATURAS	iii
OBJETIVOS	v
INTRODUCCION	1
- CAPITULO I: PORFIRINAS Y PORFIRIAS	1
I.1. GENERALIDADES	1
I.2. ORIGEN DE LAS PORFIRINAS	1
I.3. ANTECEDENTES HISTORICOS	3
I.4. REFERENCIAS	10
- CAPITULO II: TETRAPIRROLES Y COMPUESTOS RELACIONADOS	15
II.1. PRECURSORES	15
II.2. NOMENCLATURA Y ESTRUCTURA DE LOS TETRA- PIRROLES	16
II.3. PORFIRINAS	17
II.4. PORFIRINOGENOS	20
II.5. METALOPORFIRINAS	21
II.6. TETRAPIRROLES DE CADENA ABIERTA	25
II.7. PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DE LAS PORFI- RINAS	26

	Página
II.8. DISTRIBUCION EN LA NATURALEZA	28
II.9. REFERENCIAS	30
- CAPITULO III: BIOSINTESIS DE PORFIRINAS	31
III.1. INTRODUCCION	31
III.2. SUCCINIL COA-SINTETASA	33
III.2.1. Propiedades	33
III.2.2. Mecanismo de acción de la Succinil CoA-Sintetasa	34
III.3. SINTESIS ENZIMATICA DE ALA	35
III.3.1. Acido δ -Aminolevúlico Sintetasa	35
III.3.1.1. Propiedades	35
III.3.1.2. Mecanismo de acción del ALA-S	37
III.3.2. Vía alternativa para la formación de ALA	37
III.4. ACIDO δ -AMINOLEVULICO DEHIDRASA	40
III.4.1. Propiedades	40
III.4.2. Mecanismo de acción del ALA-D	41
III.5. PORFOBILINOGENASA	41
III.5.1. Propiedades	41
III.5.2. Mecanismo de acción de la PBG-asa	44
III.6. UROPORFIRINOGENO DECARBOXILASA	48
III.6.1. Propiedades	48
III.6.2. Rutas de decarboxilación de la Decarboxilasa	49
III.7. COPROPORFIRINOGENASA	50
III.7.1. Propiedades	50
III.7.2. Mecanismo de acción de la Coprogenasa	53

	Página
III.8. PROTOPORFIRINOGENO OXIDASA	55
III.9. FERROQUELATASA	55
III.10. REFERENCIAS	58
- CAPITULO IV: REGULACION	66
IV.1. INTRODUCCION	66
IV.2. MECANISMOS DE CONTROL	67
IV.2.1. Control a través de cambios en la actividad enzimática	67
IV.2.2. Control genético a través de cambios en la cantidad de enzima	68
IV.2.3. Control por especialización tisular	70
IV.2.3.1. Hígado	71
IV.2.3.2. Células eritroides	73
IV.2.3.3. Otros tejidos	76
IV.2.4. Compartimentalización intracelular	77
IV.2.5. Control por otros <u>constituyentes del medio ambiente o celular</u>	79
IV.2.5.1. Oxígeno	79
IV.2.5.2. Iluminación	79
IV.2.6. Control por interconexión con otros caminos metabólicos	80
IV.2.7. Rol de las enzimas del camino biosintético del hemo	80
IV.3. REFERENCIAS	82

	Página
- CAPITULO V: PORFIRIAS HUMANAS	86
V.1. CLASIFICACION DE LAS PORFIRIAS	86
V.1.1. Referencias	90
V.2. PORFIRIA CONGENITA ERITROPOYETICA	91
V.2.1. Historia	91
V.2.2. Herencia, Distribución e Incidencia	91
V.2.3. Sintomatología	92
V.2.4. Características bioquímicas	93
V.2.4.1. Patrón de excreción y acumulación	93
V.2.4.2. Defecto enzimático primario específico	94
V.2.5. Aparición de la enfermedad	97
V.2.6. Control y tratamiento	98
V.2.7. Referencias	100
V.3. PROTOPORFIRIA ERITROPOYETICA	103
V.3.1. Historia	103
V.3.2. Herencia, Distribución e Incidencia	103
V.3.3. Sintomatología	104
V.3.4. Características bioquímicas	105
V.3.4.1. Patrón de excreción y acumulación	105
V.3.4.2. Defecto enzimático primario específico	106
V.3.5. Tratamiento	109
V.3.6. Referencias	111
V.4. COPROPORFIRIA ERITROPOYETICA	114
V.4.1. Referencias	115

	Página
V.5. PORFIRIA AGUDA INTERMITENTE	116
V.5.1. Historia	116
V.5.2. Herencia, distribución e incidencia	116
V.5.3. Sintomatología	117
V.5.3.1. Sistema gastrointestinal	117
V.5.3.2. Sistema cardiovascular	118
V.5.3.3. Aparato renal	118
V.5.3.4. Sistema nervioso	119
V.5.3.5. Funcionamiento tiroideo	121
V.5.4. Características bioquímicas	122
V.5.4.1. Patrón de excreción	122
V.5.4.2. Defecto enzimático primario específico	122
V.5.5. Tipos clínicos de PAI	124
V.5.6. Patogenia de las porfirias agudas	125
V.5.7. Factores precipitantes	131
V.5.7.1. Esteroides	133
V.5.7.2. Menstruación	135
V.5.7.3. Embarazo	135
V.5.7.4. Anestésicos	136
V.5.8. Control y tratamiento	137
V.5.8.1. Tratamiento con hidratos de carbono	138
V.5.8.2. Tratamiento con hematina	143
V.5.8.3. Tratamiento con β -bloqueantes	146
V.5.8.4. Tratamiento con ácido fólico	146
V.5.8.5. Tratamiento con corti- coesteroides	149

	Página
V.5.8.6. Otros tratamientos	149
V.5.9. Referencias	152
V.6. PORFIRIA VARIEGATA	163
V.6.1. Historia	163
V.6.2. Herencia, distribución e incidencia	164
V.6.3. Sintomatología	164
V.6.4. Características bioquímicas	166
V.6.4.1. Patrón de excreción	166
V.6.4.2. Defecto enzimático primario	167
V.6.5. Aparición de la enfermedad	169
V.6.6. Tratamiento	169
V.6.7. Referencias	171
V.7. COPROPORFIRIA HEREDITARIA	174
V.7.1. Historia	174
V.7.2. Herencia, Distribución e incidencia	174
V.7.3. Sintomatología	175
V.7.4. Características bioquímicas	175
V.7.5. Coproporfiria homocigótica	176
V.7.6. Aparición de la enfermedad	176
V.7.7. Control y tratamiento	177
V.7.8. Referencias	178
V.8. HARDEROPORFIRIA	180
V.8.1. Historia	180
V.8.2. Referencias	182
V.9. NUEVA PORFIRIA AGUDA	183
V.9.1. Historia	183
V.9.2. Sintomatología	183
V.9.3. Características bioquímicas	183
V.9.3.1. Patrón de excreción	183

	Página
V.9.3.2. Defecto enzimático primario	184
V.9.4. Deficiencia enzimática (ALA-D) hereditaria en su- jetos asintomáticos	185
V.9.5. Referencias	186
V.10. PORFIRIA CUTANEA TARDA	187
V.10.1. Historia	187
V.10.2. Herencia, Distribución e Incidencia	188
V.10.3. Sintomatología	189
V.10.3.1. Manifestaciones dermatoló- gicas	189
V.10.3.11. Acción fotodinámica de las porfirinas	191
V.10.3.12. Origen y localización de porfirinas en piel	192
V.10.3.2. Manifestaciones hepáticas	194
V.10.4. PCT asociada a otras enfermedades	195
V.10.4.1. PCT y tumores hepáticos	195
V.10.4.2. PCT y lupus	196
V.10.4.3. PCT y diabetes	196
V.10.4.4. PCT y enfermedades renales	197
V.10.4.5. Otras asociaciones	197
V.10.5. Características bioquímicas	197
V.10.5.1. Patrón de excreción	197
V.10.5.2. Defecto enzimático primario específico	198
V.10.6. Tipos clínicos de PCT	200
V.10.7. Aparición de la enfermedad	201
V.10.8. Rol del hierro en la PCT	202
V.10.9. Control y tratamiento	204
V.10.10. Referencias	209

	Página
V.11. PORFIRIA HEPATOERITROPOYETICA	222
V.11.1. Referencias	223
V.12. INTOXICACION POR PLOMO	224
V.12.1. Sintomatología	224
V.12.2. Características bioquímicas	225
V.12.3. Control y tratamiento	226
V.12.4. Referencias	228
- CAPITULO VI: PORFIRIA EN ANIMALES	230
VI.1. INTRODUCCION	230
VI.2. <i>Sciurus niger</i> COMO MODELO ANIMAL DE PCE HUMANA	230
VI.3. PORFIRIA EN GATOS	231
VI.4. PORFIRIA EN GANADO VACUNO	232
VI.5. PORFIRIA EN CERDOS	236
VI.6. PORFIRIA EN PERROS	238
VI.7. REFERENCIAS	239
- CAPITULO VII: PORFIRIA EXPERIMENTAL	243
VII.1. INTRODUCCION	243
VII.2. PORFIRIA PRODUCIDA POR PRODUCTOS QUIMICOS NO SATURADOS. INDUCCION POR AUMENTO DE LA DESTRUCCION DEL HEMO HEPATICO	245
VII.3. PORFIRIA PRODUCIDA POR DIHIDROPÍRIDINAS SUSTITUIDAS Y GRISEOFULVINA. INHIBICION DE LA SINTESIS DEL HEMO A NIVEL DE LA FERROQUELATASA	247
VII.4. PORFIRIA PRODUCIDA POR COMPUESTOS POLI-CLORADOS. INHIBICION DE LA URO-D	249
VII.5. REFERENCIAS	253

MATERIALES Y METODOS

- CAPITULO I: MATERIALES Y METODOS	258
I.1. REACTIVOS	258
I.2. PACIENTES	258
I.3. MATERIAL BIOLOGICO	258
I.4. ESTUDIOS EN ORINA	259
I.4.1. Determinación de ALA y PBG	259
I.4.1.1. Preparación de las resinas	259
I.4.1.2. Separación de ALA y PBG	260
I.4.1.3. Determinación colorimétrica de ALA y PBG	260
I.4.2. Determinación de porfirinas libres: fracción Uro y fracción Copro	261
I.4.3. Determinación de porfirinas totales	262
I.4.4. Determinación de porfirinas esterificadas	263
I.5. ESTUDIOS EN MATERIA FECAL	264
I.5.1. Determinación del contenido de porfirinas	264
I.6. ESTUDIOS EN SANGRE	265
I.6.1. Determinación cuantitativa de porfirinas en plasma	265
I.6.2. Determinación de porfirinas en sangre	265
I.6.3. Determinación de Protoporfirina en glóbulos rojos	266
I.6.4. Determinación de proteínas en sangre	267
I.7. SEPARACION CROMATOGRAFICA DE PORFIRINAS ESTERIFICADAS	267
I.7.1. Cromatografía en papel	267

	Página
I.7.2. Cromatografía en capa delgada (TLC o HPTLC)	268
I.7.3. Cromatografía líquida a alta presión	269
I.8. OBTENCION DE LA FUENTE PROTEICA	269
I.9. DETERMINACION DE ACTIVIDADES ENZIMATICAS	270
I.9.1. ALA-S	270
I.9.2. ALA-D	270
I.9.3. PBG-asa y Deaminasa	271
I.9.4. URO-D	272
I.9.5. Ferroquelatasa	273
I.10. BIOSINTESIS DE PORFIRINAS A PARTIR DE PRECURSORES	273
I.11. REFERENCIAS	275
RESULTADOS Y DISCUSION	
- CAPITULO I: UN METODO SIMPLE PARA LA MEDICION DE PBG-ASA EN ERITROCITOS Y SU APLICACION EN EL DIAGNOSTICO DE LA PORFIRIA AGUDA INTERMITENTE	277
I.1. INTRODUCCION	277
I.2. MATERIALES Y METODOS	277
I.3. RESULTADOS Y DISCUSION	279
I.3.1. Lecturas espectrofotométricas y fluorimétricas	279
I.3.2. Efecto del método utilizado para obtener el hemolizado, concentración proteica, tiempo y temperatura de incubación.	280
I.3.3. Estabilidad de la enzima	280
I.3.4. Actividad de PBG-asa en individuos normales y en pacientes con distintos tipos de porfiria	282

	Página
I.4. CONCLUSIONES Y RESUMEN	283
I.5. REFERENCIAS	285
- CAPITULO II: BIOSINTESIS DE PORFIRINAS Y ESTUDIOS ENZIMATICOS EN ERITROCITOS DE INDIVI DUOS NORMALES Y PORFIRICOS	286
II.1. INTRODUCCION	286
II.2. MATERIALES Y METODOS	287
II.3. RESULTADOS Y DISCUSION	287
II.3.1. Determinaciones enzimáticas	287
II.3.2. Actividad biosintética	290
II.3.2.1. Biosíntesis de porfirinas totales	290
II.3.2.2. Biosíntesis de porfirinas totales en PCT y PAI	291
II.3.2.3. Distribución de porfirinas biosintéticas	292
II.3.2.4. Patrones de porfirinas bio sintéticas en casos de PCT hereditaria y no-heredita- ria y PAI antes y después del tratamiento	293
II.4. CONCLUSIONES Y RESUMEN	296
II.5. REFERENCIAS	298
- CAPITULO III: UNA NUEVA Y SIMPLE TERAPIA DE LA PORFIRIA AGUDA INTERMITENTE	300
III.1. INTRODUCCION	300
III.2. RESULTADOS Y DISCUSION	301
III.3. CONCLUSIONES Y RESUMEN	303
III.4. REFERENCIAS	306

	Página
- CAPITULO IV: LA HERENCIA EN LA PORFIRIA AGUDA INTERMITENTE Y ALGUNAS CARACTERISTICAS DE INTERES. UN ESTUDIO DE 14 FAMILIAS	307
IV.1. INTRODUCCION	307
IV.2. MATERIALES	308
IV.3. RESULTADOS Y DISCUSION	308
IV.4. CONCLUSIONES	335
IV.5. REFERENCIAS	344
- CAPITULO V: LA HERENCIA EN LA PORFIRIA VARIEGATA	346
V.1. INTRODUCCION	346
V.2. MATERIALES	347
V.3. RESULTADOS Y DISCUSION	347
V.4. CONCLUSIONES	359
V.5. REFERENCIAS	362
- CAPITULO VI: LA HERENCIA EN LA COPROPORFIRIA HEREDITARIA	363
VI.1. INTRODUCCION	363
VI.2. MATERIALES	363
VI.3. RESULTADOS Y DISCUSION	364
VI.4. RESUMEN Y CONCLUSIONES	369
VI.5. REFERENCIAS	370
- CAPITULO VII: LA HERENCIA EN LA PORFIRIA CUTANEA TARDA	371
VII.1. INTRODUCCION	371
VII.2. MATERIALES Y METODOS	373
VII.3. RESULTADOS Y DISCUSION	374
VII.3.1. Criterios	374
VII.3.2. Tipos de PCT	374
VII.3.3. Datos bioquímicos	376
VII.4. CONCLUSIONES	378
VII.5. REFERENCIAS	437

	Página
- CAPITULO VIII: LA HERENCIA EN LA PORFIRIA CONGENI- TA ERITROPOYETICA	440
VIII.1. INTRODUCCION	440
VIII.2. MATERIALES	442
VIII.3. RESULTADOS	443
VIII.3.1. Precursore s y porfirinas en orina y heces	443
VIII.3.2. Indice de fluorescencia y porfirinas en glóbulos rojos y plasma	444
VIII.3.3. Actividad de las enzimas del camino del hemo	445
VIII.4. DISCUSION	447
VIII.5. CONCLUSIONES	449
VIII.6 REFERENCIAS	450
- CAPITULO IX: LA HERENCIA EN LA PROTOPORFIRIA ERITROPOYETICA	452
IX.1. INTRODUCCION	452
IX.2. MATERIALES	453
IX.3. RESULTADOS Y DISCUSION	453
IX.4. RESUMEN	460
IX.5. REFERENCIAS	462

AGRADECIMIENTOS

Deseo manifestar especialmente mi agradecimiento a la Dra. Alcira M. del C. Batlle, quien me ha orientado durante el desarrollo del trabajo como así también en la supervisión de los manuscritos, ofreciéndome su vasta experiencia en el campo de las porfirinas.

Agradezco con toda sinceridad a la Dra. Ana María Stella quien ha dirigido esta Tesis brindándome su estímulo y continua atención.

Quiero agradecer a mi hermana su constante apoyo y ayuda durante todos estos años.

Agradezco a las Lic. Lidia Araujo y Elisa Lombardo y a la Ing. Marta Araujo por los excelentes gráficos que con tan to esmero han realizado.

A la Lic. Haydée Fukuda por su permanente colaboración en la última etapa de confección de figuras y tablas para lograr la finalización de esta Tesis.

A la Lic. Ana María Buzaleh por la dedicación y esmero puestos al transcribir el manuscrito.

A los Lic. César Polo y Ernesto Schoua por las determi naciones cromatográficas de porfirinas por HPLC e índices de fluorescencia de porfirinas plasmáticas.

A los Dres. Nora Navone y Darío Sachetti por la atención médica y confección de las historias clínicas de los pacientes que concurren a este Centro.

Al Dr. Pedro Magnin, Profesor Titular de la 1ª. Cátedra de Dermatología de la Facultad de Medicina (UBA) del Hospital "Ramos Mejía" y al Dr. Samuel Malamud, Jefe de División de Clínica Médica del Hospital de Agudos "Cosme Argerich", por la atención y seguimiento de los pacientes en los respectivos Centros Hospitalarios.

A la Srta. Hilda Gasparoli por su asistencia técnica desde el comienzo de este Trabajo.

A la Sra. Beatriz Ricillo de Aprea por las extracciones de sangre realizadas a los pacientes estudiados.

Al CONICET, la SUBCYT, la Secretaría de Salud Pública del Ministerio de Bienestar Social y el Banco de la Nación Argentina por los subsidios otorgados.

Al Dr. Gobbi, del Laboratorio Químico de la Policía Federal, por las determinaciones de plomo.

Y muy especialmente a todos mis compañeros del CIPYP quienes siempre han estado a mi lado brindándome su estímulo y cariño durante todos estos años.

ABREVIATURAS

Succ.CoA	Succinil CoA
DOVA	γ - δ -Dioxovalerato
ALA	Acido δ -aminolevúlico
PBG	Porfobilinógeno
Uro, U	Uroporfirina
Urogen	Uroporfirinógeno
Firia, Hepta	Firiaporfirina, Heptaporfirina
Hexa	Hexaporfirina
Penta	Pentaporfirina
Copro, C	Coproporfirina
Coprogen	Coproporfirinógeno
Isocopro	Isocoproporfirina
Harderogen	Harderoporfirinógeno
Proto	Protoporfirina
Protogen	Protoporfirinógeno
Succ.CoA-S	Succinil CoA-Sintetasa
ALA-S	ALA-Sintetasa
DOVA-T	DOVA-Transaminasa
ALA-D	ALA-Dehidrasa
PBG-asa	Porfobilinogenasa
Uro-D	Uro-Decarboxilasa
CPG-asa	Coproporfirinogenasa, Coprogenasa
Protogen-Oxidasa	Protoporfirinógeno-Oxidasa
PCE	Porfiria Congénita Eritropoyética
PPE	Protoporfiria Eritropoyética
CPE	Coproporfiria Eritropoyética
PAI	Porfiria Aguda Intermitente
PV	Porfiria Variegata
CPH	Coproporfiria Hereditaria
HP	Harderoporfiria
NPA	Nueva Porfiria Aguda
PCT	Porfiria Cutánea Tarda
PHE	Porfiria Hepatoeritropoyética
I-Pb	Intoxicación por plomo
ACTH	Adrenocorticotrofina
AIA	Alilisopropilacetamida
DDC	3,5-dicarbetoxi-1,4-dihidrocolidina
GABA	Acido γ -aminobutírico
GSH	Glutación reducido

IA	Iodoacetamida
PABA	Acido p-aminobenzoico
PCMB	p-Cloromercuribenzoato
SAM	S-adenosilmetionina
TCA	Acido tricloroacético
THP	Acido tetrahidrofólico
F.I.D.	Fosa ilíaca derecha
GR	Glóbulos rojos
HPLC o HPTLC	Cromatografía líquida a alta presión
L.O.	Lisis osmótica
Pr.	Propósito
TLC	Cromatografía en capa delgada
U.S.	Ultrasonido

OBJETIVOS

El metabolismo celular está constituido por una compleja serie de reacciones químicas relacionadas entre sí a través de distintas secuencias que llevan a cabo la síntesis y degradación de compuestos esenciales para la vida. En estas reacciones participan un gran número de enzimas que catalizan específicamente las mismas y que a su vez, están sujetas a un fino control genético, que permite el normal funcionamiento de la célula.

Una falla en los mecanismos de control llevan a la formación alterada de una o más enzimas específicas, dando lugar a un error innato del metabolismo, que puede manifestarse en diversas formas, dando lugar a las distintas enfermedades metabólicas. En este caso nos interesan las Porfirias.

Las Porfirias constituyen una familia de enfermedades, que pueden ser hereditarias o adquiridas y son la consecuencia de errores en el camino metabólico de las porfirinas.

Las Porfirias se caracterizan por una formación o acumulación y excreción incrementada de porfirinas o sus precursores, ácido δ -Aminolevúlico (ALA) y Porfobilinógeno (PBG) o ambos, debido a una falla en el control de su biosíntesis. Según el tejido en el cual se expresa el error metabólico, sea médula ósea o hígado suelen clasificarse en Eritropoyéticas o Hepáticas.

En algunas Porfirias hay una gran acumulación de porfirinas en orina, heces o sangre, formadas en exceso en hígado o médula. Este exceso de porfirinas hace que la piel sea sensible a la luz, tenga gran fragilidad y se formen ampollas con facilidad dando lugar a las Porfirias cutáneas. En otras Porfirias hay un significativo aumento de PBG y ALA en orina que tiene su origen en hígado, se trata de las denominadas Porfirias agudas, caracterizadas por típicos ataques agudos de dolores abdominales y manifestaciones psiquiátricas.

En base a los conocimientos actuales acerca del camino biosintético del hemo y sus metabolitos, nos interesó llevar a cabo un estudio bioquímico completo en materiales provenientes de pacientes con distintos tipos de Porfirias, tales como Porfiria Aguda Intermitente (PAI), Porfiria Variegata (PV), Coproporfiria Hereditaria (CPH), Porfiria Cutánea Tarda (PCT),

Porfiria Congénita Eritropoyética (PCE) y Protoporfiria Eritropoyética (PPE), con el objeto de poder establecer un diagnóstico diferencial tanto en el paciente clínicamente manifestado como en el portador asintomático de la enfermedad, con particular interés en el caso de niños; así como un correcto seguimiento, especialmente cuando se trata de evaluar la efectividad de una terapia determinada.

Debe enfatizarse, que si bien el objetivo inicial en este trabajo ha sido el estudio en la PCT y PAI, se han incluido además la PV, CPH, PCE y PPE con el fin de ampliar los estudios en los desórdenes del camino metabólico del hemo.

En la PAI, la falla enzimática primaria es una deficiencia genética de la PBG-asa (o Deaminasa), por lo cual la medición de la actividad de esta enzima es un elemento fundamental para el diagnóstico de la PAI.

Si bien existían algunos métodos para estos fines, la mayoría de ellos no eran de simple aplicación en la práctica. Por ello, uno de nuestros propósitos fue desarrollar un método simple, reproducible y de fácil uso tanto en laboratorios clínicos como de investigación, dotados de instrumental sencillo.

Para obtener información acerca del defecto enzimático y el carácter hereditario en las Porfirias, se realizaron estudios *in vitro* sobre la biosíntesis de porfirinas eritrocitarias en sujetos normales y pacientes porfíricos a partir de ALA bajo distintas condiciones experimentales, resultados correlacionados con las mediciones enzimáticas directas para establecer la validez del método empleado.

Como el rango de variabilidad de los valores normales es bastante amplio y puede existir superposición entre los niveles de porfíricos y controles normales, nos fijamos el propósito de determinar los valores normales para un número muy grande de controles, de diferente sexo y edad y además, era importante disponer de los valores normales para cada familia.

Teniendo en cuenta que otro objetivo era estudiar la herencia en las Porfirias, es que se llevó a cabo un estudio clínico y bioquímico completo en 14 familias de PAI, 27 de PCT, 6 de PV, 2 de CPH, 4 de PPE y 1 de PCE.

INTRODUCCION

C A P I T U L O 1

PORFIRINAS Y PORFIRIAS

I. PORFIRINAS Y PORFIRIAS

I.1. GENERALIDADES

Las porfirias comprenden un grupo de enfermedades hereditarias o adquiridas, que son una consecuencia de desórdenes en el metabolismo del hemo.

Las manifestaciones clínicas y bioquímicas específicas para cada tipo de porfiria, están relacionadas con el tejido en el cual ocurre y se expresa fundamentalmente la falla metabólica, así como con las etapas del camino biosintético de las porfirinas en las cuales ha ocurrido dicho defecto (Batlle, y col., 1981). A menudo una expresión clínica muy definida y llamativa en estas enfermedades es la excreción de orina de tonalidad rojiza a rojo oscuro provocada por la presencia de porfirinas.

Las porfirinas son compuestos de un hermoso color rojo púrpura; están presentes en todas las células vivientes, y son las responsables del color rojo de la sangre, porque forman parte de la Hemoglobina, como un complejo de hierro-protoporfirina o Hemo. El Hemo es también un constituyente de otros pigmentos, los citocromos, que juegan un papel clave en el metabolismo energético, durante el proceso fundamental de la respiración. Por otro lado, el complejo de la protoporfirina con el magnesio, da lugar a las clorofilas, que son los pigmentos que participan activamente en la fotosíntesis, el otro proceso fundamental de la naturaleza. De allí que se afirme que la vida en este planeta depende de la existencia de las porfirinas; aún más, tan importantes son las porfirinas para el funcionamiento de las más simples hasta las más desarrolladas formas de vida, que su formación y evolución parece haber sido muy probablemente contemporánea con la aparición misma de la vida (Kolesnikov y Egorov, 1977).

I.2. ORIGEN DE LAS PORFIRINAS

El proceso actual de biosíntesis del hemo tiene lugar a través de una serie de etapas y requiere la presencia de un

sistema vivo organizado, conteniendo varias enzimas y estructuras protoplasmáticas intactas.

La búsqueda clásica de Nencki (1897, 1902) sobre la naturaleza química de la hemoglobina y la clorofila revela una gran similitud entre estos importantes pigmentos de los reinos vegetal y animal y muestran que ambos reinos derivan de ancestros que ya poseían porfirinas como componentes necesarios de su protoplasma. La clorofila está ampliamente distribuida en el reino vegetal. Todos los organismos fotosintéticos la contienen, mientras que en los inferiores se encuentran compuestos de la familia de las clorofilas como la bacterioclorofila o derivados con estructura similar a los compuestos biliares (ficocianina y ficoeritrina). En tunicatos, que son organismos muy primitivos se ha encontrado un vanadio hemocromógeno, del grupo de los pigmentos biliares (Webb, 1939).

Las Fe-porfirinas, ampliamente distribuidas a través del mundo viviente, juegan un importante rol en la estructura de los protoplasmas vivos, como grupos prostéticos de varias enzimas.

En 1957, Oparin observó que la mayoría de sus contemporáneos que estudiaban el problema del origen de la vida, estaban de acuerdo en que en algún momento de la evolución química, en las aguas del océano primitivo debieron haberse formado aquellos compuestos heterocíclicos biológicamente tan importantes: "las porfirinas".

Simulando en el laboratorio, las condiciones existentes en la atmósfera primitiva de la Tierra, se lograron sintetizar porfirinas abiogénicamente.

En 1955, Treibs, trabajando a temperaturas muy elevadas y medio ácido pudo obtener una mezcla de porfirinas, a partir de porfobilinógeno abiogénicamente. Scott demostró en 1956 que por medios puramente químicos el ácido δ -amino levúlico (ALA) puede convertirse en porfobilinógeno (PBG). Hodgson y Ponnamperna (1968) consiguieron sintetizar porfirinas libres a partir de una mezcla de metano, amoníaco y vapor de agua por acción de descargas eléctricas. Simionescu y col., también obtuvieron una mezcla de porfirinas libres queladas con cinc o cobre (Simionescu y col., 1977, 1978).

La formación de complejos moleculares entre aminoácidos y porfirinas fue una etapa esencial en la evolución química prebiológica (Oparin, 1957), estrechamente relacionada con la implicancia de las porfirinas en los procesos fundamentales de la fotosíntesis y la respiración, y con el cambio gradual de una atmósfera primitiva totalmente anaeróbica a una aeróbica, requisito necesario para el desarrollo de la vida en este planeta.

Kolesnikov y colaboradores (1981), realizaron estudios sobre hemoproteínoides y complejos moleculares obtenidos a través de la absorción de porfirinas y aminoácidos sobre cenizas volcánicas. Los datos obtenidos sugieren que este tipo de complejos pudieron haberse formado en el curso de la evolución química, y que fueron intermediarios entre las moléculas sintetizadas abiogénicamente de aminoácidos y porfirinas y los sistemas pigmento-proteicos de los organismos vivientes.

Según Oparin (1957), las porfirinas y sus derivados metálicos aparecieron en las aguas de la hidrosfera como resultado de una síntesis química orgánica, aún antes de la aparición de los seres vivientes, de manera que los primeros organismos pudieron tomarlos del medio circundante y fue recién durante el curso del desarrollo posterior de la vida que surgió la necesidad de sintetizarlos a partir de compuestos metabólicos simples como succínico, oxálico o glicina.

Por otro lado, se han encontrado metaloporfirinas y ficobilinas en rocas precámbricas (Kolesnikov y Egorov, 1977). Hodgson y col. (1968), estudiaron la geoquímica y distribución de las porfirinas en sedimentos y rocas sedimentarias de distintas edades, desde el período Precámbrico primario hasta el presente encontrando compuestos metálicos de porfirinas con Ni, Va y Fe; demostrándose que estas porfirinas son de origen biogénico, al igual que las encontradas en el petróleo y en meteoritos extraterrestres (Hodgson y Baker, 1964).

1.3. ANTECEDENTES HISTORICOS

Desde un punto de vista histórico el estudio de las porfirinas puede enfocarse considerando dos aspectos fundamentales: el bioquímico-geológico y el médico (With, 1976). Al

primero de ellos, relacionado con el origen de las porfirinas, ya nos hemos referido (I.2.), mientras que el segundo comienza en 1840 con la obtención de hematina libre de Fe que se logró por tratamiento químico de la hemoglobina con ácido sulfúrico concentrado (Berzelius, 1840; Scherer, 1841; Mulder, 1844). Años más tarde Thudichum (1867) purifica y cristaliza la hematina libre de Fe, a la cual designa como "cruentina" y describe su fluorescencia como de un espléndido color rojo sangre. Este descubrimiento no fue valorado en toda su magnitud en su momento, siendo reconocido y honrado recién en 1958 (Drabkin, 1958 y 1963; Mc Ilwain, 1958). La propiedad de fluorescer fue olvidada hasta que en 1871 Stokvis la redescubrió. En este mismo año Hoppe-Seyler introdujo por primera vez el término hematoporfirina y en 1879 publicó sus estudios sobre la porfirina de la clorofila, llamándola filoporfirina, en virtud de su fluorescencia roja.

Otro de los avances en el estudio de las porfirinas fue el descubrimiento de Soret (1883) de la banda de absorción de la hemoglobina en el UV cercano, que se conoce hoy con su nombre.

El estudio clínico de las porfirinas fue iniciado por Schultz (1874) con la descripción de un caso diagnosticado originalmente como una lepra atípica, y luego descrito como un caso de "Porfiria Congénita". Baumstark (1874) realizó estudios sobre los pigmentos urinarios de este paciente obteniendo dos fracciones a las que llamó Uro-rubohematina y Uro-fuscohematina, debido a que sus espectros de absorción eran similares al de la hematina libre de hierro. La interpretación que Baumstark dió a su hallazgo fue muy avanzada para su época, pues propuso que estos pigmentos eran la consecuencia de un error en la biosíntesis de la hemoglobina y no una anomalía en su degradación, según la teoría ampliamente aceptada en aquel momento (Zoja, 1893).

El aspecto médico de las porfirias tomó gran importancia después de la introducción del hipnótico sulfonal, sintetizado por Baumann (1886) y comercializado por Kast (1888) como somnífero. El uso de este medicamento produjo la aparición de una nueva enfermedad: la forma tóxica de la porfiria aguda.

Stokvis (1889) fue el primero en detectar en la orina

de una paciente adicta a la morfina, que había ingerido unos pocos gramos de sulfonal, un pigmento semejante a la hematoporfirina señalando que el color de la orina le recordaba al del vino oporto. Baumann y Kast (1890) realizaron estudios farmacológicos sobre el sulfonal y compuestos relacionados. En ese mismo año Harley (1890) publicó sus observaciones acerca de la precipitación de un ataque agudo típico en dos mujeres que habían ingerido sulfonal, sin identificar los pigmentos ni el rol patogénico de la droga. Los trabajos más interesantes sobre porfiria tóxica fueron los de Geill (1891) y Fehr (1891) en los cuales hacen una descripción clínica brillante llegando a la conclusión de que el 5-10% de las mujeres tratadas con sulfonal desarrollaban porfiria.

Es interesante y anecdótico el comentario de Krabbe (1945) en el cual refiere que Fehr tuvo las intenciones de realizar un análisis químico de la orina de estos pacientes intoxicados con sulfonal, pero su director no lo autorizó, aduciendo que debían ser las mismas pacientes quienes volcaban vino oporto en sus orinas. En 1892, Friedenreich publicó nuevos casos de intoxicación puntualizando las siguientes características: orina marrón oscuro, dolores abdominales y paresia. Los primeros estudios realizados sobre la naturaleza química de los pigmentos urinarios en intoxicaciones por sulfonal datan de 1891. Hamarsten (1891, a, b) encontró que el pigmento urinario no era idéntico a la hematoporfirina artificial, mientras que ese mismo año Salkowski publicaba precisamente que se trataba de hematoporfirina. Garrod (1892, 1893, 1896) fue más precavido en sus conclusiones y puntualizó que sólo una pequeña parte de los compuestos excretados en orina de pacientes intoxicados con sulfonal correspondía a hematoporfirina o compuestos similares. Fue recién en 1916 que Fischer (1916 b) determinó con precisión que la porfirina excretada en la orina de intoxicados con sulfonal era sólo una y la denominó urinoporfirina.

Una nueva era en la química de las porfirinas comenzó con Nencki en 1888, quien demostró que la hematoporfirina contenía dos grupos carboxilo (Nencki y Sieber, 1888). Nencki también se ocupó del estudio del hemo y sus derivados (Nencki y Zaleski, 1901) encontrando una nueva porfirina que denominó mesoporfirina. A su colaborador Zaleski se le debe la preparación

de los complejos de hierro y magnesio de la mesoporfirina (Zaleski, 1904).

En 1896, Sallet a partir de orina normal pudo extraer y purificar coproporfirina designándola en ese momento como "uroespectrina", demostrando, además, que se encontraba en la orina como un cromógeno no coloreado.

Una importante etapa en la investigación de las porfirinas se relaciona con los estudios del famoso paciente: Matthias Petry, mencionado por primera vez por Günther en una conferencia dictada en Bonn el 13.3.1911 y cuyos resultados fueron publicados en detalle ese mismo año por Günther (1911,a,b) en un trabajo pionero en el cual introdujo el término "hematoporfiria" para designar el grupo de enfermedades ahora conocidas como porfirias, proponiendo al mismo tiempo una subdivisión de las mismas en: Congénitas, Agudas tóxicas, Agudas genuinas y crónicas, una clasificación que, con algunas modificaciones todavía subsiste.

Petry constituyó hasta su muerte, a los 32 años de edad, una fuente valiosísima de porfirinas para Hans Fischer. Su orina contenía tal cantidad de estos pigmentos que Fischer y Zerweck (1924 a) prepararon 192 mg de éster de uroporfirina a partir de 2.425 ml de orina la cual corresponde a una concentración de aproximadamente 80 mg/l. Su autopsia fue publicada por Fischer y colaboradores (1925) bajo el título de "Porfirinuria", un término que gradual y lentamente fue desplazando al de "hematoporfiria" usado por Günther. En 1929 Borst y Königsdörfer publicaron la autopsia patológica.

Willstätter y col. (1906, 1913) realizaron importantes trabajos sobre la química de estos pigmentos, tanto en el campo de las clorofilas como en el de las porfirinas. Küster (1912) estudió la estructura del hemo y propuso la fórmula correcta del esqueleto de las porfirinas.

Fischer fue el primero en utilizar el término porfirina sin prefijos (Fischer y Meyer, 1912). Preparó porfirinógenos (1913, 1916 b) e introdujo los términos "Urinporfirina" (1915a) y "Kotporfirina" (1915 b), en estudios realizados sobre la excreta de Petry.

Recién en 1924, Fischer y Zerweck emplearon los térmi-

nos Uroporfirina y Coproporfirina en un trabajo en el cual introdujeron una versión simplificada de la decarboxilación de Uro a Coproporfirina (Fischer y Zerweck, 1924 a y b).

Hans Fischer se graduó primero en química y poco tiempo después en medicina, siendo esta última disciplina de gran importancia en sus primeros trabajos en los cuales estudió el efecto fotosensibilizante y la excreción fisiológica de porfirinas en animales de experimentación. Propuso que la Coproporfirina, una vez inyectada en el organismo, se convierte en Coproporfirinógeno y que la Uroporfirina tiene un efecto mucho más fotosensibilizante que la hematoporfirina (Fischer, 1915 a; 1915 b; 1916 a; 1916 b).

Los estudios de Fischer sobre las porfirinas fueron de importancia fundamental y exhaustivos, razón por la cual le otorgaron el premio Nobel en 1930. Sus cuantiosos trabajos se encuentran recopilados en la monumental monografía escrita en colaboración con Orth (Fischer y Orth, 1934, 1937, 1940). Fischer se suicidó el 21 de marzo de 1945, cuando su Instituto en Munich fue destruido por un bombardeo. Sus discípulos lograron salvar la valiosa y única colección de porfirinas y honraron su memoria creando la Fundación Hans Fischer.

En 1924 Kammerer descubrió una porfirina formada durante la descomposición de la sangre e Hijmans, van der Bergh y col. (1928, 1929) prepararon un nuevo éster de Coproporfirina a partir de un caso grave de porfiria cutánea.

En la década del 30 renació el interés por la fluorescencia de las porfirinas. Vigliani (1933) propuso el uso de esta propiedad como un método analítico para la medición de estos pigmentos y Dhéré (1911, 1934) y Hoerbarger (1933) publicaron estudios detallados al respecto, sin embargo, es sorprendente que Fischer no haya mencionado este trabajo en su recopilación sobre metodología de porfirinas.

En los años 30 inicia sus trabajos una nueva generación de importantes porfirinólogos. El químico inglés Rimington radicado en Sud Africa para esa época estudió una enfermedad que padecían las ovejas "Geeldikkop", demostrando que el problema de la fotosensibilización se debía a la filloeritrina de la clorofila (Rimington y Quin, 1934). Fourie (1936) descubrió Porfiria congénita en ganado bovino y Rimington (1936) realizó el

estudio de este material. Rimington se interesó luego en el pigmento rojo de las plumas de los Turacos de Sud Africa (Musciphaeidae); Church (1869, 1892) había identificado este pigmento como una Cu-porfirina. Sin embargo, Rimington (1939) demostró sin ninguna duda, que se trataba en realidad de Uroporfirina III, en desacuerdo con Fischer e Hilger (1923, 1924) quienes habían propuesto que se trataba de Uroporfirina I, pero recién 20 años después, With (1957) confirmó los resultados de Rimington.

Los médicos Waldenström y Watson trabajaron en el laboratorio de Fischer. Waldenström estudió la porfiria aguda en una numerosa familia del norte de Suecia que en realidad ya había sido investigada durante varios años por Wahlquist; sin embargo el carácter prepotente de Waldenström hizo imposible una fructífera colaboración entre estos dos suecos, acerca de esta familia especial.

En 1931, en la orina de un paciente porfírico, obtenida durante un ataque, Sachs encontró un cromógeno que daba reacción positiva de Ehrlich. Este hallazgo fue inteligentemente explotado por Waldenström en su publicación de 1937 en la cual utilizaba el término cromógeno y es recién en el trabajo de 1939, en el cual Waldenström y Wahlquist hablan de los cromógenos: PBG y porfobilina, a pesar de que erróneamente, siempre se menciona a la publicación de 1937 como origen del término Porfobilinógeno. Además, es de notar que en ese mismo trabajo, Waldenström (1937) sostenía la hipótesis de que la porfirina excretada en la porfiria cutánea era Uroporfirina III, lo cual no era correcto por cuanto luego se demostró que correspondía a una mezcla de Uroporfirina I y una porfirina heptacarboxílica. Sin embargo, la importancia del trabajo de Waldenström reside en el estudio profundo de la porfiria aguda, en haber introducido realmente el término porfobilinógeno, en destacar el rol de los barbituratos en la precipitación de los ataques porfíricos y en la demostración del carácter hereditario autosómico dominante de la porfiria aguda, con manifestaciones variables, a menudo bajo formas latentes.

Lemberg y Legge (1949) fueron los primeros en postular que el PBG, es el primer y único monopirrol del camino biosintético del hemo, que se forma por condensación de dos moléculas de ALA. Fueron también estos autores quienes propusieron clara

mente que las porfirinas excretadas por los pacientes porfíricos eran formadas durante la síntesis del hemo y no eran un producto de su degradación.

Recién pudo determinarse con certeza el rol del PBG después de su cristalización, lograda por Westall (1952) y la determinación de sus propiedades y estructura química (Cookson y Rimington, 1954).

Fue también en el laboratorio de Rimington donde se aplicó por primera vez un procedimiento cromatográfico como método de fraccionamiento e identificación de porfirinas (Nicholas y Rimington, 1949). Desde entonces se usó sistemáticamente la fluorescencia en el análisis y preparación de las porfirinas (Rimington y Hemmings, 1938; Rimington, 1943) y se desarrolló el primer método espectrofotométrico para el análisis y cuantificación de Uroporfirina (Rimington y Sveinsson, 1950) todavía empleado hoy. Se descubrió, también para entonces, la importante propiedad de las porfirinas de adsorberse sobre talco (Mc Swiney y col., 1950; Gibson y Harrison, 1950) utilizada posteriormente por With (1967, 1969) para el desarrollo de un método de cromatografía en capa delgada, ampliamente difundido en la actualidad.

El grupo de Watson introdujo los conceptos de Porfirias hepáticas y eritropoyéticas; y fue el primero en destacar el rol de la latencia en todas las formas de porfiria (Schmid y col., 1954). La identificación y caracterización de la protoporfiria eritropoyética (PPE) como un nuevo tipo de porfiria se debe al grupo de Magnus y Rimington (Magnus y col., 1961), a pesar de haber sido descripta originalmente por Kosenow y Treibs (1953).

Importantes avances clínicos fueron las descripciones de la porfiria variegata (PV) en Sud Africa (Dean y Barnes, 1955) y de la porfiria tóxica por hexaclorobenceno en Turquía (Cam, 1957; Cetingil y Özen, 1960).

Con el progreso de los conocimientos enzimológicos originados en las escuelas de Shemin, Rimington, Granick y Neuberger, se obtuvo una valiosa información sobre cada uno de los distintos tipos de porfiria lo cual ha permitido el desarrollo de terapias adecuadas.

I.4. REFERENCIAS

- Batlle, A.; Magnin, P. & Wider, E. en: "Porfirinas y Porfirias, Etiopatogenia, Clínica y Tratamiento" (1981) EUDEBA.
- Baumann, E. Ber.deut. chem. Ges. 19 (1886) 2806.
- Baumann, E. & Kast, A. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 14 (1890) 52.
- Baumstark, F, Arch. f. d. ges. Physiol. 9 (1874) 568.
- Berzelius, J. Lehrbuch der Chemie 9 (1840) 67.
- Bogorad, L. & Granick, S. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 39 (1953) 1176.
- Boij, H.L. & Rimington, C. Biochem. J. 65 (1957) 3P.
- Borst, M. & Königsdörfer, H. Untersuchungen über Porphyrrie. S. Hirzel, Leipzig (1929).
- Cam, C. Nester (Istanbul) 1:2 (1957) Turkish.
- Cetingil, A. & Özen, M. Blood 16 (1960) 1002.
- Church, A. Proc. Roy. Soc. (Philos. Transact.) (1869) 627.
- Church, A. Proc. Roy. Soc. (Philos. Transact.) 183 A (1892) 511.
- Cookson, G. & Rimington, C. Bioch.J. 57 (1954) 476.
- Dean, G. & Barnes, H. Brit. Med. J. II (1955) 89.
- Dhéré, C. Abderhaldens Hab. der. biol.Arbeitsmethoden. Abt. II, 3 (1934) 3233.
- Dhéré, C. & Sobolewski, S. C. r. Soc. Biol. (Paris) 70 (1911) 511.
- Drabkin, D. en: "Thudichum - Chemist of the brain" Univ. of Pennsylvania Press, Philadelphia (1958).
- Drabkin, D. Ann. New York Acad. Sci. 104 (1963) 658.
- Fehr, H. Hospitalstudende 9 (1891) 1122.
- Fischer, H. Hoppe-Seyler's Z. phisiol. Chem. 95 (1915 a) 34.
- Fischer, H. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 96 (1915 b) 148.

- Fischer, H. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 97 (1916 a) 109.
- Fischer, H. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 97 (1916 b) 148.
- Fischer, H.; Bartholomeus, E. & Rose, H. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 84 (1913) 262.
- Fischer, H. & Hilger, J. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 128 (1923) 167.
- Fischer, H. & Hilger, J. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 138 (1924) 49.
- Fischer, H.; Hilmer, H.; Lindner, F. & Pützer, B. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 150 (1925) 44.
- Fischer, H. & Meyer, F. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 82 (1912) 97.
- Fischer, H. & Orth, H. en: "Die Chemie des Pyrrols I" (1934); II, 1 (1937); II, 2 (1940). Akadem. Verlagsgesellschaft, Leipzig, Photostatic Editions. Ann. Arbor Univ. Press 1946 y Johnson Reprint Corp, New York, 1968.
- Fischer, H. & Zerweck, W. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 137 (1924 a) 176.
- Fischer, H. & Zerweck, W. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 137 (1924 b) 242.
- Fourie, J. Onderste poort. J. Vet. Sci. 7 (1936) 535.
- Friedenreich, A. Hospitalstidende 10 (1892) 704.
- Garrod, A. J. Physiol. 13 (1892) 598.
- Garrod, A. J. Path. y Bact. 1 (1893) 187.
- Garrod, A. J. Path. y Bact. 3 (1896) 434.
- Geill, C. Hospitalstidende 9 (1891) 797 y 821.
- Gibson, O. & Harrison, D. Biochem. J. 46 (1950) 154.
- Günther, H. Deut. Med. Wschr. 37 (1911 a) 1771.
- Günther, H. Dtsch. Arch. f Klin. Med. 105 (1911 b) 89.
- Hammarsten, O. Uppsala Läkareförenings Förhandl 26 (1891 a) 259.
- Hammarsten, O. Uppsala Läkareförenings Förhandl 26 (1891 b) 487.

- Harley, V. Brit. Med. J. II (1890) 1169.
- Hijmans, A. van der Bergh; Regniers, R. & Muller, P. Arch. für Verdauungsskr 42 (1928) 302.
- Hijmans, A. van der Bergh Koninkl.Akad.Wetenschappen, Amsterdam 32 (1929) 15.
- Hodgson, G. & Baker, B. Nature 202 (1964) 125.
- Hodgson, G.; Hitchow, B.; Taguchi, K.; Baker, B. & Deake, E. Geochim et Cosmochim Acta 32 (1968) 737.
- Hodgson, G. & Ponnamperuma, C. Proc.Nat.Acad.Sci.59 (1968) 22.
- Hoerbuerger, W. en: "Zur Kenntnis der Porphyrinflouoreszenz und deren Anwendung bei physiologischen. (1933). Erlangen.
- Hoppe-Seyler, F. Tubinger Med. Chem. Untersuchungen, Haft. 4 (1871) 523.
- Hoppe-Seyler, F. Hoppe-Seyler's Z.physiol.Chem. 4 (1879) 193.
- Kämmerer, H.Dtsch. Arch. f. Klin. Med. 145 (1924) 257.
- Kast, A.Therapeut. Monatshefte 11 (1888) 316.
- Kolesnikov, M. & Egorov, I. Origins of Life 8 (1977) 383.
- Kolesnikov, M.; Voronova, N. & Egorov, I. Origins of Life 11 (1981) 223.
- Kosenow, W. & Treibs, A. Z.f.Kinderheilk 73 (1953) 82.
- Krabbe, K. Ugeskr. f. Lager 107 (1945) 974.
- Küster, W. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 82 (1912) 463.
- Lemberg, R. & Legge, R. Interscience, New York (1949).
- Magnus, I.; Jarret, A.; Pranker, T. & Rimington, C. The Lancet II (1961) 448.
- Mc Ilwain, H. Proc. Roy. Soc. Med. 51 (1958) 127.
- Mc Swiney, R.; Nicholas, R. & Prunty, F. Biochem.J.46 (1950) 147.
- Mulder, G. J.f.prakt. Chem. 32 (1844) 186.
- Nencki, M. & Sieber, N. Arch.exper.Path.u Pharm.24 (1888) 430.
- Nencki, M. & Zaleski, J. Berichte d. Deutsch. Chem. Gesellschaft 34 (1901) 997.
- Nentskii (Nencki), M. Arch. Sci. Biol., St. Pétesb., 5 (1897) 524.

- Nentskii (Nencki), M. & Markhlevskii (Marchlewski), L. Ibid., 9 (1902) 387.
- Nicholas, R. & Rimington, C. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1 (1949) 12.
- Oparin, I.A. en: "The origin of life on the earth" (1957) Academic Press. Inc. New York.
- Rimington, C. Onderstepoort J. Vet. Sci. 7 (1936) 567.
- Rimington, C. Proc. Roy. Soc. B. 127 (1939) 106.
- Rimington, C. Biochem. J. 37 (1943) 137.
- Rimington, C. & Hemmings, A. The Lancet I (1938) 770.
- Rimington, C. & Quin, J. Onderstepoort J. Vet. Sci. 3 (1934) 137.
- Rimington, C. & Sveinsson, S. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 2 (1950) 209.
- Sachs, D. Klin Wochschr. 10 (1931) 1123.
- Sallet, H. R v de M d. 16 (1896) 542.
- Salkowski, E. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 15 (1891) 286.
- Scherer, J. Liebigs Annalen Chem. u Pharm. 40 (1841) 1.
- Schmid, R.; Schwartz, S. & Watson, C. AMA. Arch. Int. Med. 93 (1954) 167.
- Schultz, J. Inaugural dissertation (Med) Grefwald (1874).
- Scott, J. Biochem. J. 62 (1956) 6 P.
- Simionescu, C.; Simionescu, B.; Mora, R.; Leanca, M. & Ioanid, E. Comptes rendus 284 serie c (1977) 743.
- Simionescu, C.; Simionescu, B.; Mora, R.; Leanca, M. & Vasilescu, M. C. R. Acad. Sc. Paris, t. 286 (1978) Serie D pp. 1021.
- Soret, J. Arch. des Sciences Phys. et Natur 10 (1883) 430.
- Stokvis, B. Maandblad voor Naturwetenschappen 1 (1871) 125.
- Stokvis, B. Weekblad van het Nederl Tydshr V. Geniesk (1889) 409.
- Thudichum, J. 10th Report of the medical Officer, Privy Council, Appendix 7 (1867) 200 y 227.

- Treibs, A. Conférences et Rapports Zéme Congres International de Biochimie, Bruxelles, 1-6 Aout, 1955, pag. 207. Liege 1956.
- Vigliani, E. Gior. R. Accad. Med., Torino 96 (1933) 81.
- Waldenström, J. Acta med. Scand. Suppl. 82 (1937) 120.
- Waldenström, J. & Wahlquist, B. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. (1939) 189.
- Webb, D. J. exp. Biol. 16 (1939) 499.
- Westall, R. Nature (London) 170 (1952) 614.
- Willstätter, R. & Fischer, H. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 87 (1913) 423.
- Willstätter, R. & Mieg, W. Liebigs's Ann. d. Chem. 350 (1906) 1.
- With, T. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 9 (1957) 398.
- With, T. Clin. Biochem. (Montreal) 1 (1967) 30.
- With, T. J. Chromatog. 42 (1969) 369.
- With, T. en: "Porphyrin in human diseases: report of the discussions" (Ed. M. Doss y P. Naukocki) (1976) Freiburg.
- Zaleski, J. Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 43 (1904) 11.
- Zoja, L. Arch. Ital. de Biol. 19 (1893) 425.

C A P I T U L O I I

TETRAPIRROLES Y COMPUESTOS RELACIONADOS

II. TETRAPIRROLES Y COMPUESTOS RELACIONADOS

Para comprender las causas de los desórdenes en el metabolismo del hemo, es esencial un conocimiento previo de la química y bioquímica de precursores y porfirinas, así como el camino normal de biosíntesis (Figura II.1.).

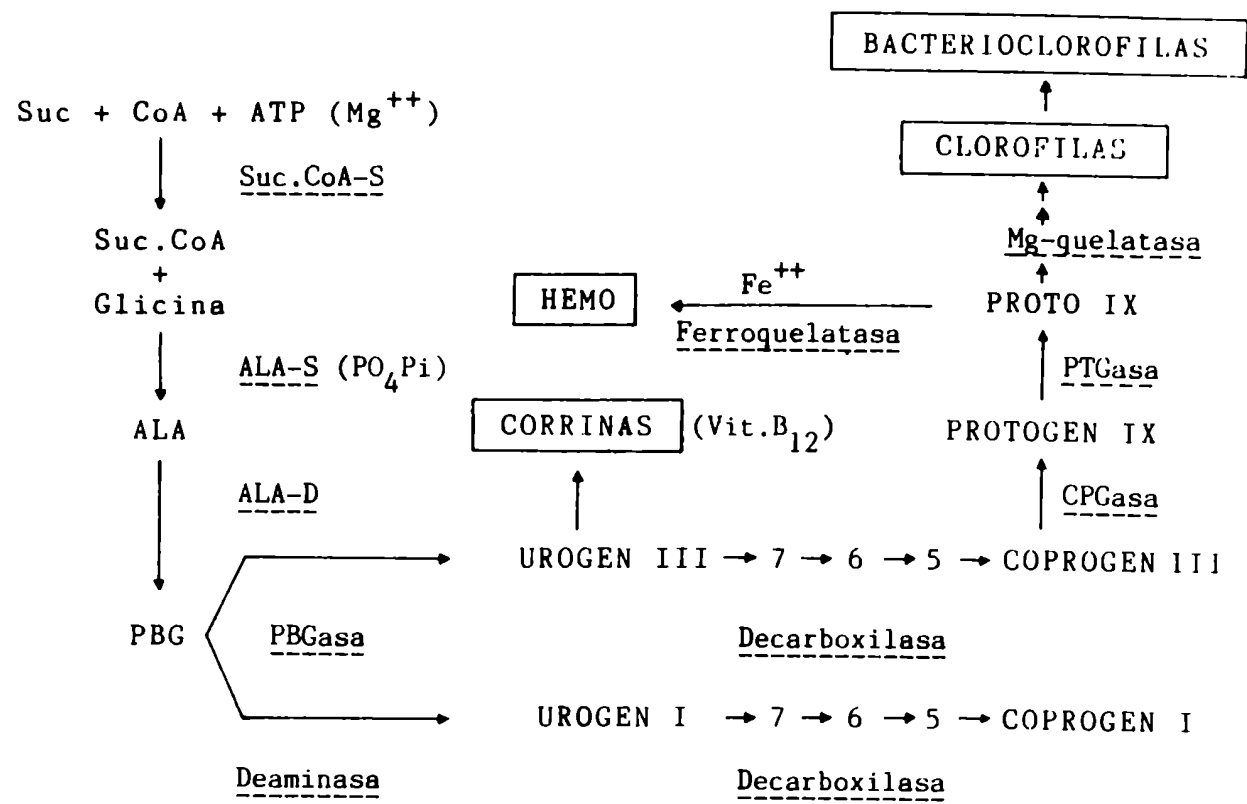


Figura II.1.: *Diagrama de la biosíntesis de tetrapirroles*

II.1. PRECURSORES

Como se observa en la Figura II.1. la biosíntesis de porfirinas en la célula se lleva a cabo a partir de moléculas simples. La cadena se inicia con los precursores (Figura II.2.).

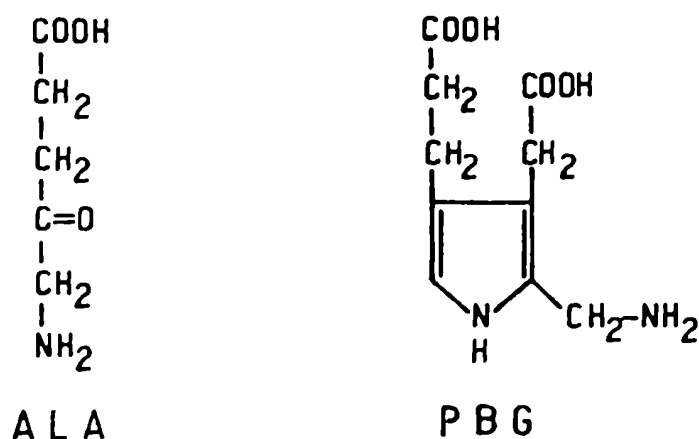


Figura II.2.: Estructura química del ácido δ -Aminolevulico (ALA) y del Porphobilinógeno (PBG)

II.2. NOMENCLATURA Y ESTRUCTURA DE LOS TETRAPIRROLES

Los tetrapirroles constituyen el esqueleto fundamental de hemo, clorofilas, corrinas y pigmentos biliares (Figura II.1.).

Recordemos que es a Fischer, y a su escuela, a quienes se les debe todos los conocimientos básicos acerca de la estructura y propiedades de las porfirinas (Fischer y Orth, 1934; 1937; 1940).

Las porfirinas son los prototipos de los tetrapirroles cíclicos, mientras que los pigmentos biliares representan los tetrapirroles lineales.

Los tetrapirroles, naturales o sintéticos derivan de dos núcleos básicos: Porfina y Clorina (Figura II.3.), que contienen cuatro anillos pirrólicos (A, B, C y D), unidos entre sí por medio de cuatro puentes metenos (α , β , γ y δ); los carbonos externos β y β' , de los anillos pirrólicos, se identifican con los números 1 al 8, comenzando por el núcleo A. La diferencia entre estas dos estructuras básicas se debe simplemente a la presencia del anillo D reducido en la Clorina.

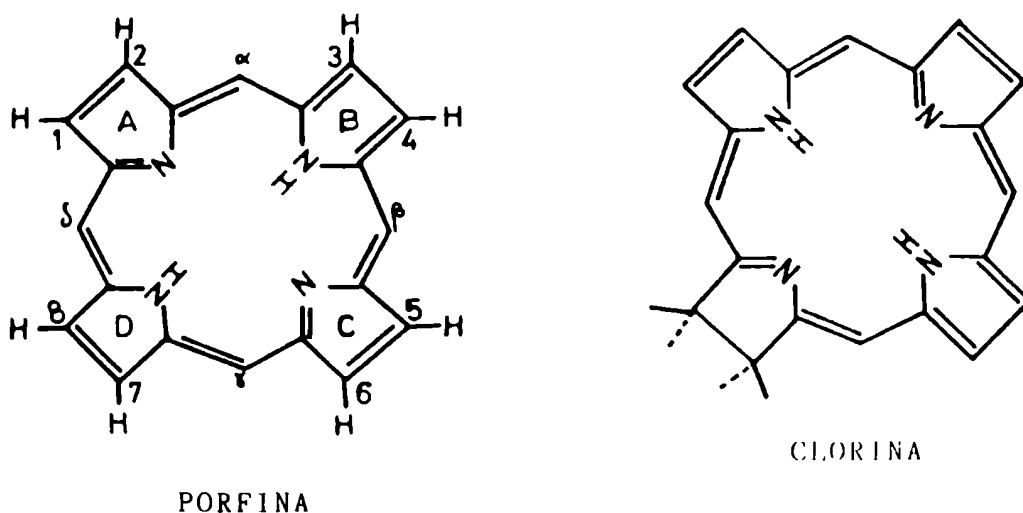


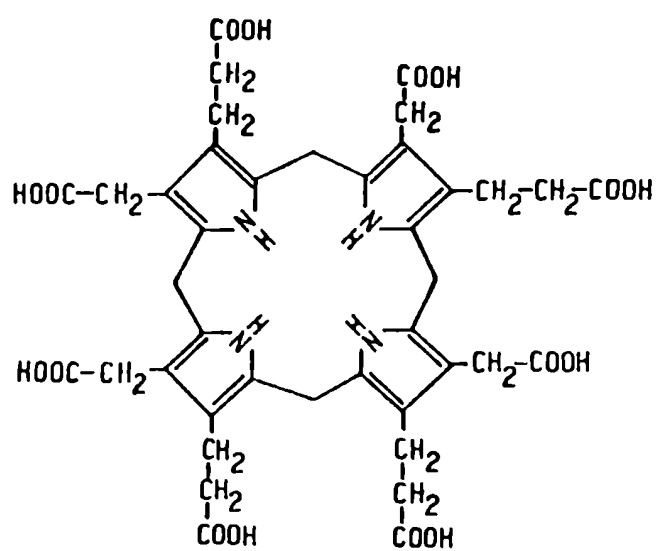
Figura 11.3.: Estructura de la Porphina y de la Clorina

Los tetrapirroles que encontramos en la naturaleza derivan de estos dos esqueletos básicos, que han sufrido las siguientes modificaciones:

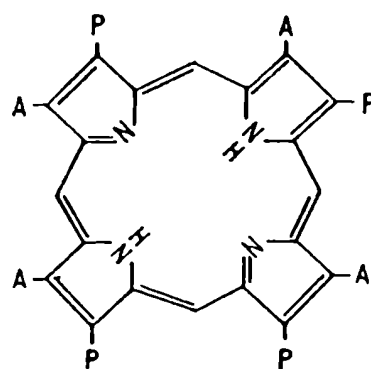
- a) sustitución parcial o total de los átomos de carbono externos (1 al 8) por restos alquilo;
- b) sustitución o reemplazo sobre los puentes meténicos; los sustituyentes pueden ser átomos de hidrógeno, como en los porfirinógenos, o un anillo de ciclopentanona como en las clorofilas, o un reemplazo como ocurre en el anillo porfirínico de la corrina, típico de los derivados de la vitamina B₁₂, en el cual se ha perdido el puente meténico;
- c) inserción de un metal, conduciendo a la formación de las metaloporfirinas.

11.3. PORFIRINAS

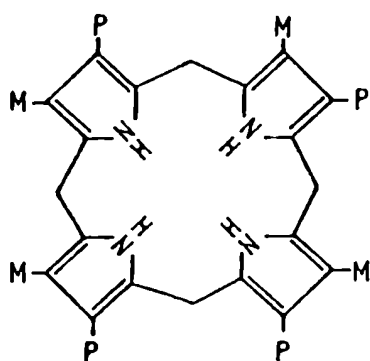
Las porfirinas son derivados de los tetrapirroles y se diferencian entre sí según el ordenamiento de las cadenas laterales en las posiciones 1 a 8 de los anillos pirrólicos. En la Figura 11.4. vemos la estructura básica de las porfirinas con interés biológico.



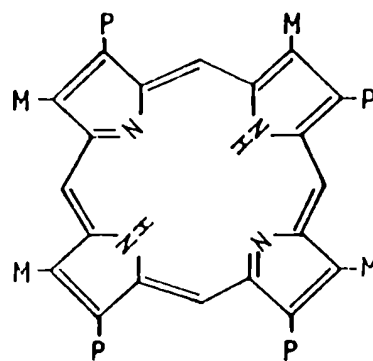
Uroporphirinógeno III



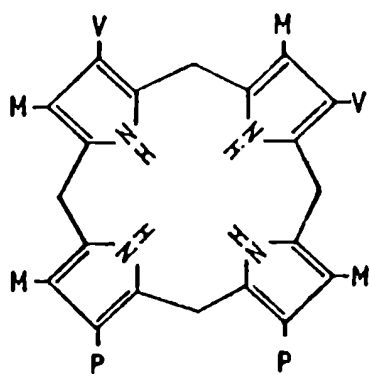
Uroporfirina III



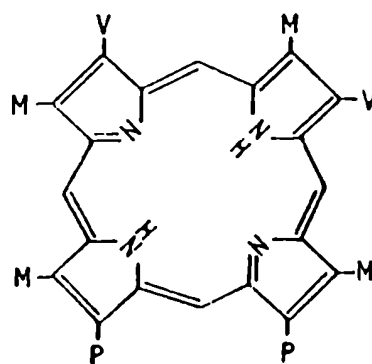
Coproporphirinógeno III



Coproporfirina III



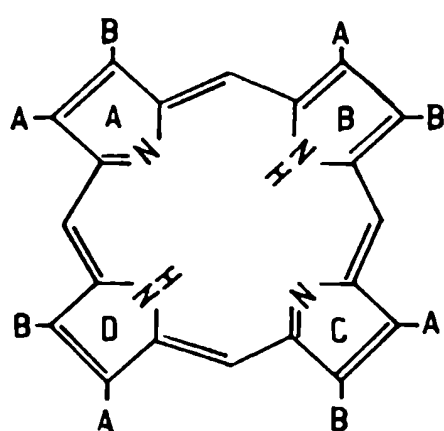
Protoporphirinógeno IX



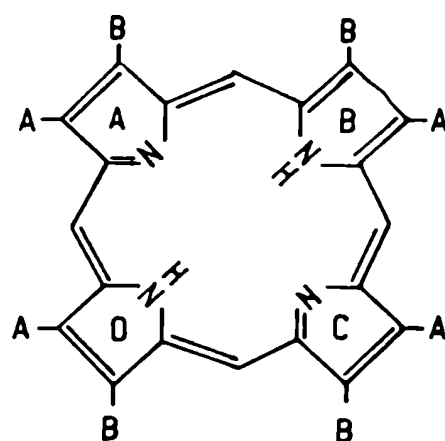
Protoporfirina IX

Figura II.4.: Estructuras de las porfirinas de interés biológico

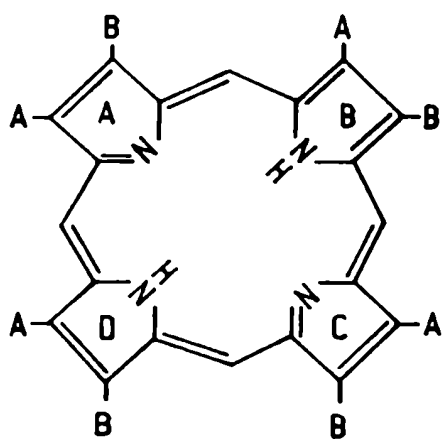
Existen cuatro isómeros posibles para Uroporfirina y Coproporfirina (Figura II.5.), ya que en estas porfirinas hay dos grupos distintos de sustituyentes: acético y propiónico, en la Uroporfirina, y metilo y propiónico en la Coproporfirina. En la naturaleza sólo se han encontrado los isómeros del tipo I y III.



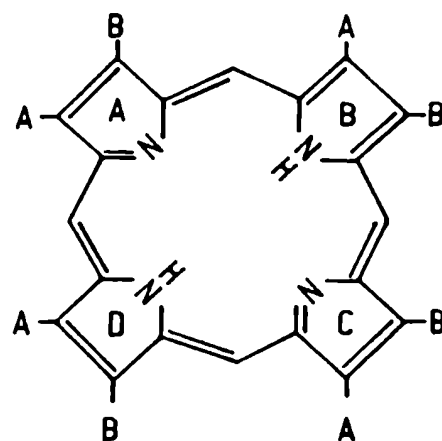
Tipo I



Tipo II



Tipo III



Tipo IV

Figura II.5.: Estructuras de los isómeros de las Uro, Copro y Etioporfirinas

En el caso de la Protoporfirina (Figura II.6.), que tiene tres sustituyentes distintos ($-\text{CH}_3$, $-\text{CH}=\text{CH}_2$ y $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$) es posible la existencia de 15 isómeros de posición. Si bien Fischer y Orth (1937) lograron sintetizar los 15 isómeros, sólo se ha encontrado en la naturaleza el que lleva arbitrariamente el número IX.

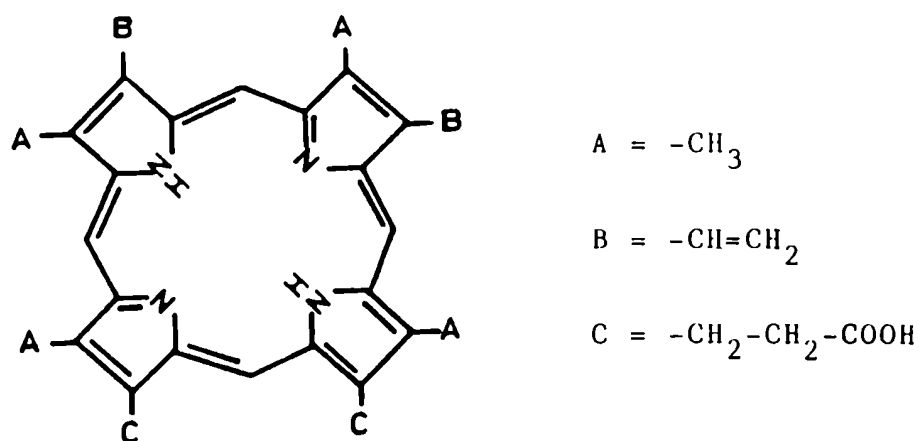


Figura II.6.: *Estructura de la Protoporfirina IX*

La Protoporfirina IX deriva del isómero tipo III del Coproporfirinógeno; de esta forma los tetrapirroles de la serie III son los que cumplen una función fisiológica, mientras que los de la serie I, encontrados también en la naturaleza, son sólo productos anormales del camino metabólico de las porfirinas.

II.4. PORFIRINOGENOS

Los porfirinógenos representan las formas reducidas de las porfirinas (Figura II.7.). Son compuestos incoloros que se oxidan espontáneamente a las correspondientes porfirinas. Los porfirinógenos son los verdaderos intermediarios en la biosíntesis normal del hemo y clorofila.

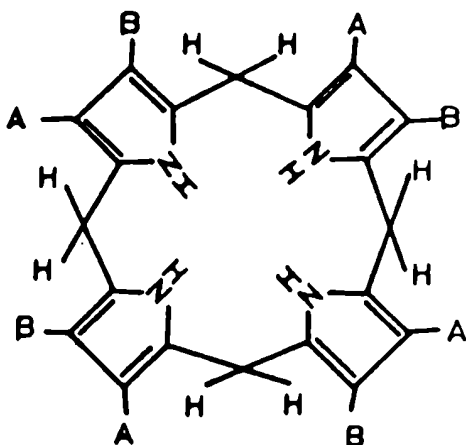


Figura II.7.: *Estructura de un porfirinógeno*

II.5. METALOPORFIRINAS

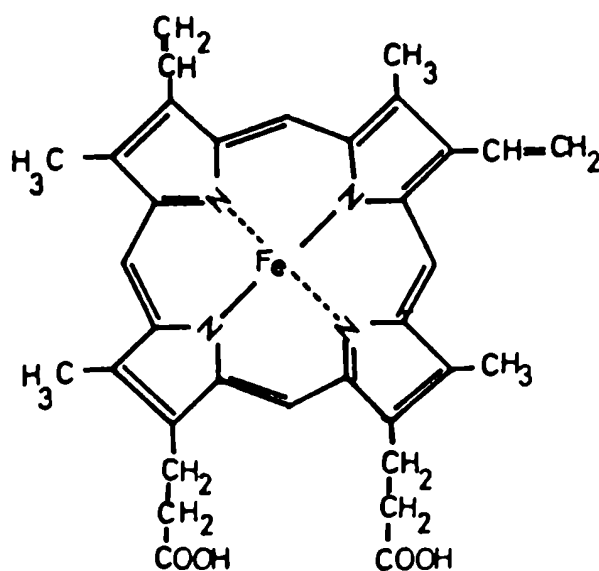
Las porfirinas libres o esterificadas se combinan fácilmente con los metales para formar quelatos.

Los compuestos que llevan a la formación del hemo, al menos a partir de ALA, participan de un único camino biosintético. Granick (1950) encontró que mutantes de *Clhorella*, incapaces de sintetizar clorofila acumulaban Proto IX y Mg-Proto IX. Esta observación fue fundamental y estaba indicando que la biosíntesis del hemo y de la clorofila debía proceder de una secuencia de reacciones, comunes hasta por lo menos la etapa de formación de Proto IX. Es decir, a partir de este punto el camino se ramifica hacia clorofila, por inserción de Mg en la porfirina; o hacia hemo por incorporación de hierro en la Proto IX.

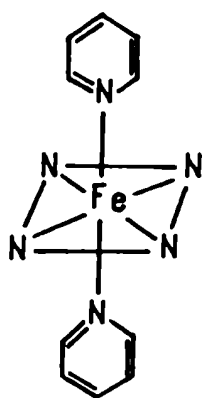
Los tres tipos principales de tetrapirroles quelados, de significación biológica son: hemo (Figura II.8.), quelato de hierro con Proto IX; clorofila y bacterioclorofila (Figura II.9.), quelatos de magnesio con Proto IX y corrinas (Figura II.10.) quelatos de cobalto, derivados del Uroporfirinógeno III.

El hemo, o ferro-protoporfirina IX, es la forma en la cual existen (en las células) las hemoproteínas. El hemo se oxida fácilmente en contacto con el aire a hematina, o hemina,

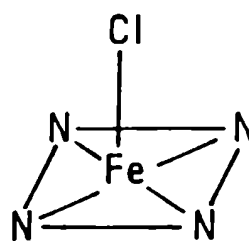
según haya presentes iones hidroxilos o cloruros. El cloroderivado es muy estable y es la forma bajo la cual se aísla el grupo prostético de la hemoglobina (Figura II.8.).



HEMO



PIRIDINA-HEMOCROMO



CLOROHEMINA

Figura II.8.: Estructura y nomenclatura de los complejos de hierro de la Protoporfirina

El hemo posee una estructura en la cual los cuatro anillos pirrólicos y el hierro están ubicados en un plano, conservando el metal, la capacidad para unirse por medio de enlaces coordinados con dos moléculas que se ubican por arriba y por debajo del plano que contiene el anillo porfirínico. Estos derivados se conocen como hemocromos o hemocromógenos (Figura II.8.). La hematina también da lugar a compuestos similares, conocidos como hemicromos o hemicromógenos. Entre los compues-

tos que pueden formarlo encontramos el peróxido de oxígeno, oxígeno, monóxido de carbono, iones cianuro y una amplia gama de bases nitrogenadas como la piridina y el amonio.

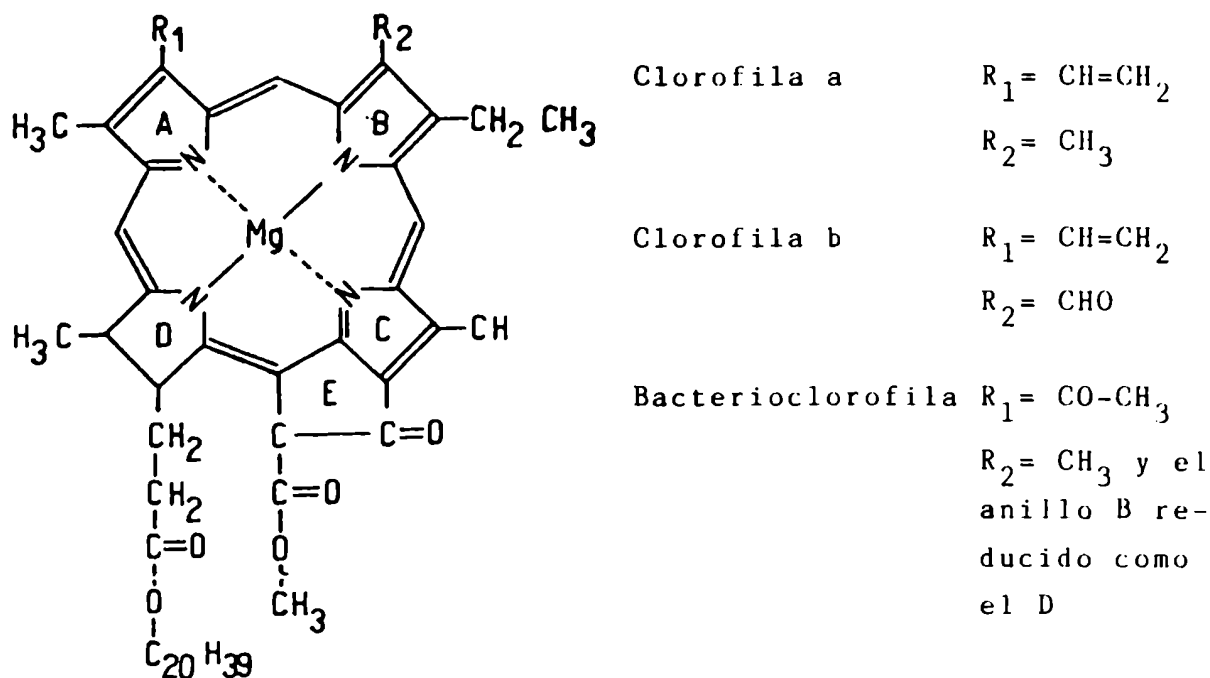


Figura II.9.: Estructura de las Clorofilas a, b y Bacterioclorofila.

Las clorofilas son tetrapirroles derivados de la clorina con un anillo adicional (E) de ciclopentanona, formado por ciclización de la cadena lateral propiónica sobre el C_6 con el carbono del puente meténico. El anillo D (en las clorofilas de las plantas) y los anillos B y D (en la clorofila de las bacterias) se encuentran al estado reducido. Además, la cadena lateral propiónica sobre el C_7 del anillo D está esterificada con un alcohol isoprenoide de cadena larga que generalmente es el fitol (Figura II.9.).

En la naturaleza existen diferentes tipos de clorofilas, siendo las más comunes las clorofilas a, b y la bacterioclorofila. *In vivo*, todas las clorofilas están unidas a complejos lipoproteicos, aunque aún no se conoce completamente cuál es la naturaleza de su enlace.

En el grupo de las corrinas encontramos la vitamina B_{12} (Figura II.10.). Su diferencia con el grupo básico de la

porfina reside en que tiene un puente metileno menos entre los pirroles, de modo que dos de ellos se encuentran unidos directamente a una de las cadenas laterales del pirrol y un grupo 5,6 dimetilbenzimidazol, que está coordinado a la quinta posición del cobalto central; las cadenas laterales contienen grupos amida en vez de grupos ácido. Cuando se aisla la vitamina B_{12} a partir del medio de fermentación, generalmente se obtiene con cianuro complejoado a la sexta posición del cobalto. Esta es la forma comunmente conocida como la Vitamina B_{12} , a la cual se denomina también, cianocobalamina o cianocobamina.

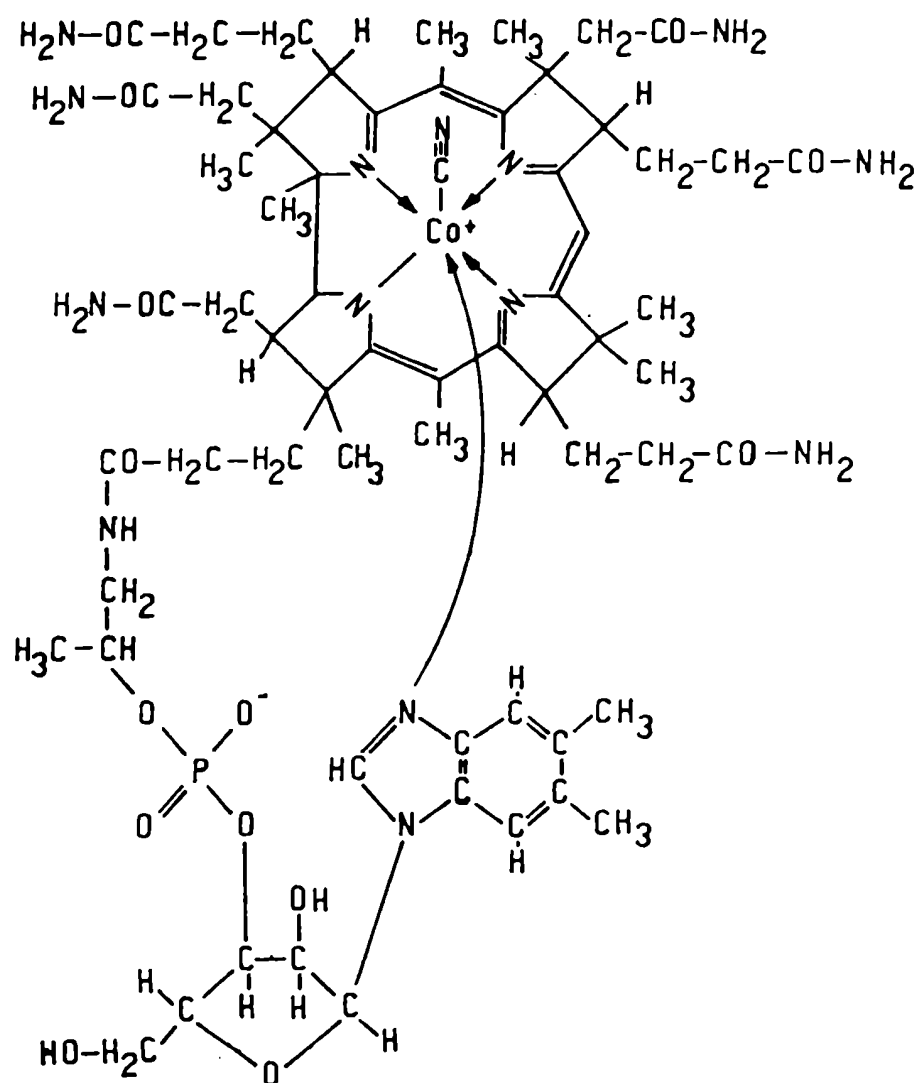
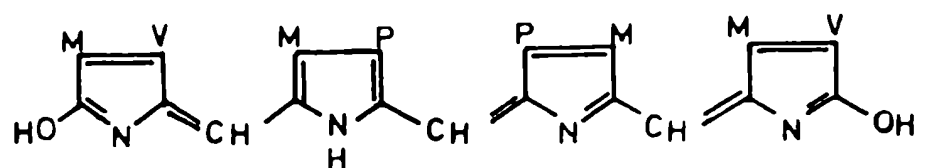


Figura II.10.: Estructura de la Vitamina B_{12}

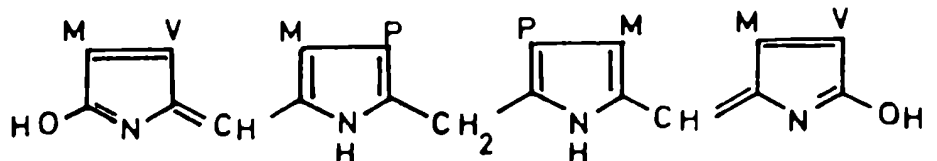
Una de las formas coenzimáticas activas de la vitamina B₁₂ contiene un grupo 5'-deoxiadenosilo coordinado a la sexta posición del cobalto, en lugar del cianuro, siendo esta coenzima la 5'-deoxiadenosilcobamida.

II.6. TETRAPIRROLES DE CADENA ABIERTA

Los tetrapirroles lineales representan los metabolitos de los tetrapirroles cíclicos e incluyen compuestos tales como biliverdina y bilirrubina en animales y las ficobilinas en las plantas (Figuras II.11., A y B).



A



B

Figura II.11.: Estructuras probables de la Biliverdina IX y Bilirrubina IX (A) y de la Ficocianobilina y Ficoeritrobilina (B).

II.7. PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DE LAS PORFIRINAS

La existencia de un sistema de dobles ligaduras alternadas en las porfirinas da como consecuencia una estructura resonante, muy estable y planar.

Presentan un intenso pico de absorción en la región de 400 nm que se conoce como banda de Soret. Todos los tetrapirroles en los cuales el núcleo está completamente conjugado, incluyendo porfirinas, metaloporfirinas y hemoproteínas presentan la banda de Soret. En los porfirinógenos, en los cuales la conjugación alrededor del macrociclo está interrumpida, y en los pigmentos biliares, no se encuentra banda de Soret. Sin embargo los complejos de cinc de algunos pigmentos biliares y la vitamina B₁₂ exhiben dicha banda debido a que se mantiene la conjugación a través del átomo metálico.

En las determinaciones espectrofotométricas se selecciona el máximo correspondiente a la banda de Soret, lo cual permite detectar concentraciones del orden de 10^{-6} M.

El número y patrón de bandas que se pueden observar en la zona del visible varía con el tipo de tetrapirroles en estudio, con el solvente y con el pH (Figura II.12.), pero es absolutamente característico para cada porfirina en un dado solvente y pH.

Las porfirinas en solventes orgánicos o en soluciones alcalinas débiles presentan un típico espectro de cuatro bandas en la región del visible cuya intensidad se incrementa barriendo el espectro desde la zona roja hacia la azul. En estas condiciones las soluciones de porfirinas exhiben un hermoso color rojo amarronado según la concentración. Las cadenas laterales sustituyentes en los anillos pirrólicos no influyen ni en el patrón ni en la intensidad relativa de las bandas pero sí modifican su posición en el espectro y la intensidad absoluta constituyendo un buen sistema de identificación de las porfirinas (Tabla II.1.).

En soluciones ácidas, las porfirinas presentan un color rojo púrpura y el espectro "neutral" de cuatro bandas se reemplaza por uno de dos bandas mucho más agudas, intensas y bien definidas con una tercera banda débil situada entre ambas (Figura II.12.A). La banda de Soret también es mucho más inten

sa (Figura II.12.B).

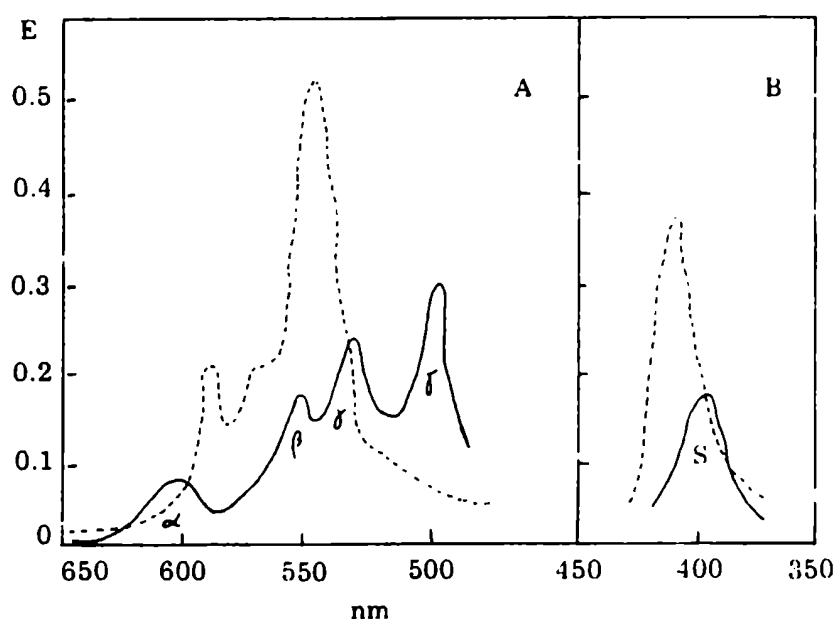


Figura II.12.: Espectro de absorción de una solución de Coproporfirina III libre en HONa 0,02 M (Línea continua) o en HCl 0,15 N (Línea punteada). En la región visible (A) la concentración fue de 30 μ M, mientras que para la zona de Soret (B) se usó una concentración de 1,8 μ M.

Cuando las porfirinas libres o esterificadas se exponen a una longitud de onda UV (alrededor de 400 nm) emiten una intensa fluorescencia roja, con picos en la región de 590-660 nm (Falk, 1964; Granick y Mauzzerall, 1961). Esta propiedad permite detectar porfirinas en cantidades del orden de 10^{-8} - 10^{-9} M, razón por la cual los métodos fluorimétricos empleados actualmente son los más sensibles. La intensidad de la fluorescencia emitida también depende del solvente y del pH, siendo mínima en el punto isoeléctrico y máxima en ácidos minerales como el ClH a pH 1. Sólo algunas metaloporfirinas fluorescen, aunque mucho menos intensamente que las correspondientes porfirinas y recordemos que los porfirinógenos no presentan fluorescencia.

La solubilidad en agua de las porfirinas va aumentando con el número de carboxilos en las cadenas laterales. Por esta razón es que la Uroporfirina se excreta por orina, la Coproporfirina en orina y bilis y la Protoporfirina, que es la menos

soluble en agua, se elimina solamente por vía biliar.

Tabla II.1.: Máximos de absorción de Uro, Copro y Protoporfirina en HOK 0,1 M.

PORFIRINAS	POSICIONES DE LAS BANDAS (nm)				
	α	β	γ	δ	Soret
Uroporfirina	612	560,5	539	504	405
Coproporfirina	617,5	565,5	538,5	503	401
Protoporfirina	642	591	540	510	408

Tanto las porfirinas como sus complejos metálicos son fácilmente solubilizados en solventes orgánicos acidificados tales como: acetona-ClH o acetato de etilo-ClH.

II.8. DISTRIBUCION EN LA NATURALEZA

Las porfirinas libres existen en la naturaleza en pequeñas cantidades y sólo se han encontrado en materiales biológicos los isómeros I y III de porfirinas llevando entre 8 y 3 carboxilos y la Protoporfirina IX (Falk, 1964). Existe una concentración relativamente elevada de Protoporfirina y Coproporfirina libres en los nódulos de raíces de leguminosas, encontrándose como trazas en algunas plantas superiores (Klüver, 1948; Falk y col, 1959).

En la glándula de Harder de la rata se acumula Protoporfirina IX, así como también en las áreas pigmentadas de las cáscaras de huevo de muchas especies de pájaros (Schwartz y col., 1975), mientras que en las conchas de ciertos moluscos se ha encontrado Uroporfirina (Nicholas y Comfort, 1949; Fox y Vevers, 1969).

Las porfirinas, y especialmente la Coproporfirina se excretan al medio de crecimiento de una gran cantidad de microorganismos (Lascelles, 1964).

En cuanto a las metaloporfirinas, existen complejos de Uro III con cobre en las plumas del *Turacus Indicus* en una concentración bastante elevada (Nicholas y Rimington, 1954). También hay algunas evidencias de la presencia de Mg-porfirinas en sangre (Borg y Cotzias, 1958).

Las Fe-porfirinas no existen libres en los tejidos en condiciones normales mientras que en casos patológicos la hemina se deposita en los tejidos como resultado de filtraciones de sangre a través de capilares. La hemina se encuentra asimismo, como producto metabólico en ciertos organismos inferiores (Fox y Vevers, 1960).

Los productos de degradación de la clorofila, tales como feofitinas y feoforbidas generalmente complejados con níquel o vanadio están presentes en aceites de esquistos o en petróleo crudo, como así también en arenas bituminosas y en materiales asfálticos (Treibs, 1934; Vallentyne, 1958).

Mientras que las porfirinas libres no tienen una función fisiológica claramente definida, el hemo y la clorofila son moléculas muy importantes desde el punto de vista biológico.

Recordemos que el hemo actúa como grupo prostético de hemoproteínas, pigmentos fundamentales para los procesos celulares involucrados en el transporte de oxígeno y en la transferencia de electrones, como hemoglobina o como grupo prostético de los citocromos a_1 , a_3 , b, c y c_3 respectivamente. También participan en la activación de las moléculas de oxígeno, como grupo prostético del citocromo P-450 mitocondrial; en la síntesis de hormonas esteroideas y en el metabolismo de hormonas, drogas y productos químicos, por medio de los sistemas que incluyen al citocromo P-450 microsomal y en la descomposición enzimática del peróxido de hidrógeno como grupo prostético de la catalasa y la peroxidasa (Batlle y col, 1981).

II.9. REFERENCIAS

- Batlle, A.; Magnin, P. & Wider, E. en: "Porfirinas y Porfirias. Etiopatogenia, Clínica y Tratamiento" (1981) EUDEBA.
- Borg, D. & Cotzias, G. Nature 182 (1958) 1677.
- Falk, J. en: "Porphyrins and Metalloporphyrins" Vol 2 (1964). BBA Library. Elsevier Publ. Co. Amsterdam, London, New York.
- Falk, J.; Appleby, C. & Porra, R. Symp. Soc. Explt. Biol. 13 (1959) 73.
- Fischer, H. & Orth, H. Die Chemie des Pyrrols I (1934); II 1 (1937); II 2 (1940). Akadem. Verlagsgesell-Schaft, Leipzig, Photostatic. Editions. Ann. Arbor Univ. Press 1946 y Johnson Reprint Corp, New York, 1968.
- Fox, H. & Vevers, G. en: "The nature of Animal colours" (1960) Sidgwick y Jackson, London.
- Granick, S. Harvey Lect. 44 (1950) 220.
- Granick, S. & Mauzerall, O. en: "Metabolic Pathways" vol. 2 (1961) (Ed. D. M. Greemberg) Academic Press. New York, 525.
- Klüver, H. J. Psychol 25 (1948) 331.
- Lascelles, J. en: "Tetrapyrrole Biosynthesis and its regulation" (1964) (Ed. Benjamin), New York.
- Nicholas, R. & Corfort, A. Biochem. J. 45 (1949) 208.
- Nicholas, R. & Rimington, C. Biochem. J. 50 (1954) 194.
- Schwartz, S.; Stephenson, B.; Sarkar, D. & Bracho, M. Ann. N. Y. Acad. Sci. 244 (1975) 570.
- Treibs, A. Angew. Chemn. 47 (1934) 725.
- Vallentyne, J. en: "Comparative Biochemistry of Photoreactive Systems" Vol 1 (1960) 83. Symp. Quant. Biol. (Ed. M. B. Allen) Academic Press, New York.

C A P I T U L O I I I

BIOSINTESIS DE PORFIRINAS

III. BIOSINTESIS DE PORFIRINAS

III.1. INTRODUCCION

El hecho de que todas las células aeróbicas de origen animal, vegetal y bacteriano son capaces de sintetizar hemo a través de un camino cuyas primeras etapas coinciden, ha permitido alcanzar un amplio conocimiento acerca de las enzimas involucradas en la síntesis de este pigmento (Figura III.1.).

La biosíntesis de porfirinas a partir de moléculas simples como el succinato y la glicocola hasta la formación de Protoporfirina IX, el intermediario común de hemos y clorofilas, se lleva a cabo por la acción de varias enzimas. Tanto la primera como las tres últimas enzimas están localizadas en la mitocondria, mientras que las restantes se encuentran en el citoplasma (Granick y Mauzerall, 1958 a).

El ALA-Sintetasa (ALA-S) es la primera enzima del camino, la cual sintetiza el ALA. Por acción del ALA-Dehidrasa (ALA-D), dos moléculas de ALA dan lugar al intermediario aromático y único pirrol natural, el PBG. La Porfobilinogenasa (PBG-asa), un complejo de dos enzimas, Deaminasa e Isomerasa, sintetiza a partir de 4 moléculas de PBG el anillo tetrapirrólico, Uroporfirinógeno III, con 8 carboxilos en las cadenas laterales de los pirroles. En deficiencia de Isomerasa se obtiene Uroporfirinógeno I. De allí en adelante, la Uroporfirinógeno Decarboxilasa decarboxila la porfirina octacarboxílica para dar intermediarios con 7, 6 y 5 carboxilos, llegando finalmente al Coproporfirinógeno III (ó I), con 4 carboxilos; éste en dos etapas posteriores, por medio de las enzimas Coprogenasa y Protopogenoxidasa termina en Proto IX que por último, mediante una metal quelatasa, inserta el metal (Fe ó Mg) que lleva a la formación de hemo, clorofila o bacterioclorofila.

En el caso de las corrinas la bifurcación se produce a la altura de Urogen III.

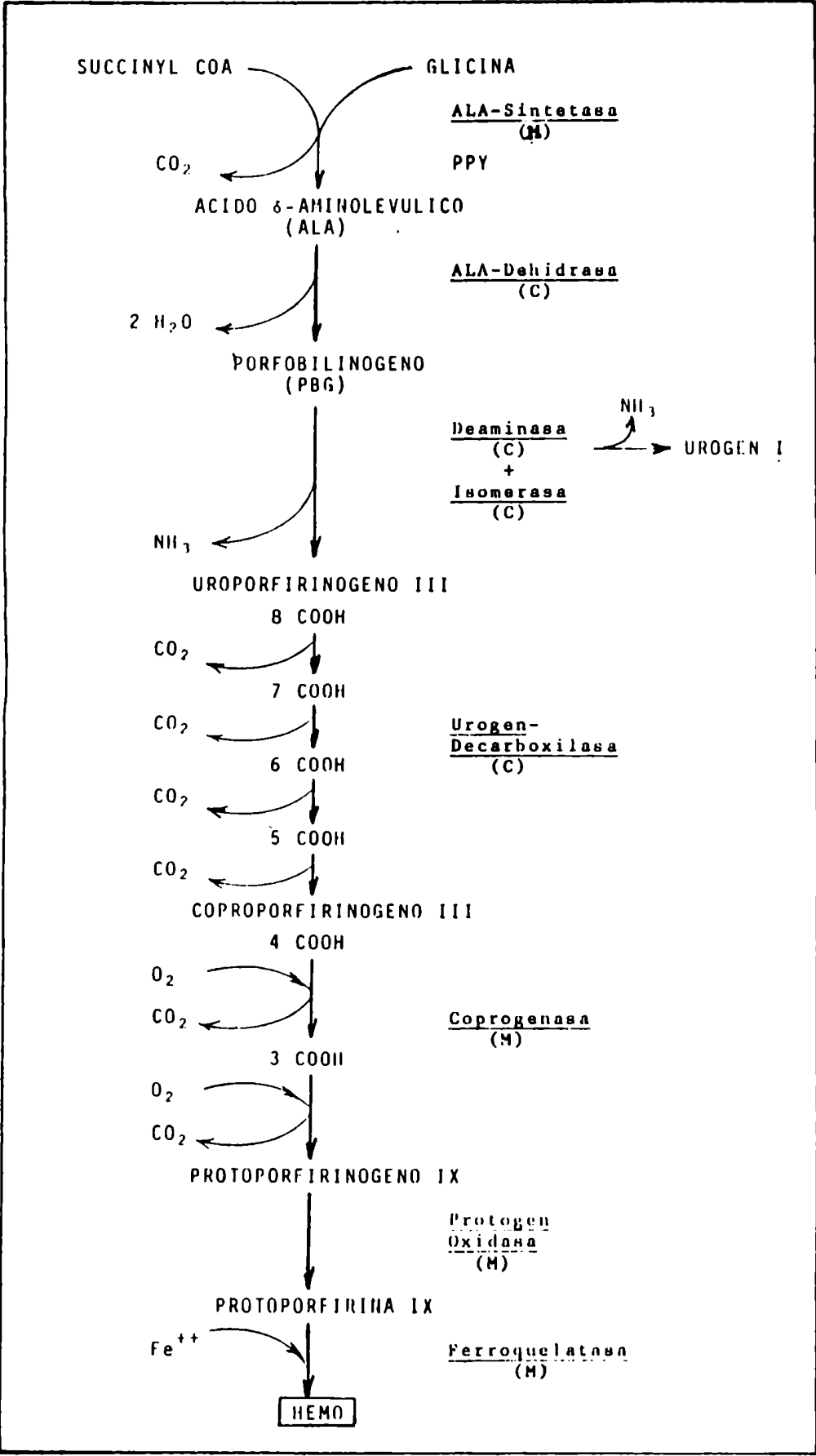


Figura III.1.: Camino metabólico del hemo

III.2. SUCCINIL COA SINTETASA

III.2.1. Propiedades

Existen numerosas evidencias experimentales que indican que la Succinil CoA Sintetasa (Succ.CoA-S) desempeña un importante papel en la biosíntesis de los tetrapirroles y su control (Wider de Xifra y Tigier, 1971; Batlle y col., 1975).

Esta enzima, conocida también como Succinil CoA tioquinasa, cataliza reversiblemente la formación de Succ.CoA a partir de succinato, CoA y ATP (Figura III.2.).

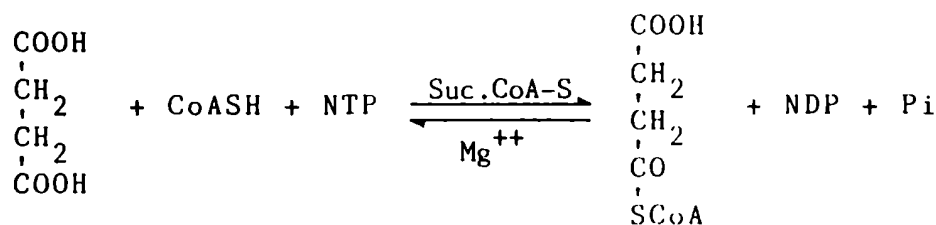


Figura III.2.: *Síntesis de Succinil CoA catalizada por la Succinil CoA-S*

La Succ.CoA-S fue descubierta por Kaufman en 1951 y desde entonces ha sido detectada, aislada y purificada a partir de numerosas fuentes tales como: corazón de cerdo, riñón, hojas de espinaca, leguminosas, trigo, tabaco, mitocondrias de alcaucil, callos de soya y *E. coli* (Nishimura y Grinnel, 1972; Wider de Xifra y Batlle, 1973).

La enzima proveniente de la mayoría de los tejidos estudiados, resultó ser particulada, presentando una alta especificidad para el succinato y la CoA pero no así con el nucleósido trifosfato, el cual varía con la fuente estudiada. Requiere además un metal divalente, Mg^{++} o Mn^{++} , para manifestar al máximo su actividad (Wider de Xifra y Batlle, 1980).

La Succ.CoA-S es una enzima sulfhidrífica, que se inhibe por reactivos típicos de grupos tioles, tales como iodoacetamida (IA) y p-cloromercuribenzoato (PCMB). En algunos tejidos necesita la presencia de un protector de sulfhidrilos, como el glutatión reducido (GSH) para mantenerse activa (Wider y Tigier, 1970; Wider de Xifra y Batlle, 1974).

El peso molecular varía entre 70.000 y 140.000, dependiendo de la fuente proteica en estudio. Mediante el empleo de agentes disociantes se ha demostrado que está formada por dos tipos de subunidades, α y β de pesos moleculares 29.000 y 41.000 respectivamente. Así, en *E. coli* la enzima se presenta en su forma más estable como tetrámero del tipo $\alpha_2\beta_2$ (Batlle y col., 1981).

III.2.2. Mecanismo de acción de la Succ.CoA-S

Se realizaron numerosos trabajos que llevaron a la postulación de varios mecanismos los cuales son coincidentes en una etapa: la fosforilación de la enzima por medio del nucleósido trifosfato rico en energía. Uno de los esquemas que tiene en cuenta todas las evidencias experimentales acumuladas hasta el presente y que considera, además, todos los otros mecanismos postulados, se ilustra en la Figura III.3. (Wider de Xifra, y Batlle, 1976).

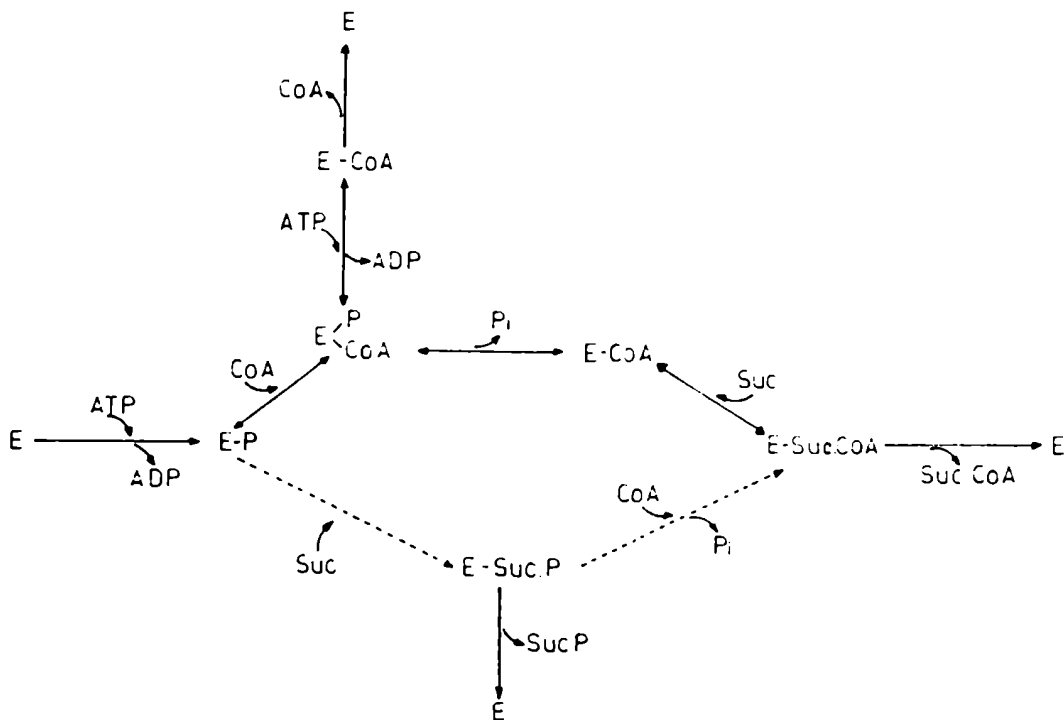


Figura III.3: *Mecanismo de acción de la Succinil-CoA Sintetasa*

III.3. SINTESIS ENZIMATICA DE ALA

III.3.1. Acido δ -Aminolevúlico Sintetasa

III.3.1.1. Propiedades

El ALA se produce en la mitocondria por la condensación de glicina y Succ.CoA. La enzima que cataliza esta reacción es el ALA-Sintetasa (ALA-S).

El ALA-S requiere fosfato de piridoxal y CoA como cofactores, y la deficiencia de vitamina B₆ produce una disminución en la actividad enzimática (Aoki y col., 1975). Es una enzima sulfhidrúlica y altamente específica para la Succ.CoA.

Normalmente, la actividad del ALA-S se asocia con la función mitocondrial. Sin embargo, bajo ciertas condiciones experimentales es posible detectarla en el citoplasma. Así, en hígado de rata y de embrión de pollo tratados con alilisopropilacetamida (AIA) ó 3,5-dicarbetoxy-1,4-dihidrocolidina (DDC), potentes inductores químicos de porfirinas hepáticas, se encontró un considerable aumento de la actividad del ALA-S citoplasmática (Hayashi y col., 1969; Ohashi y Kikuchi, 1972; Whiting y Elliot, 1972; Patton y Beattie, 1973).

Existen razones para creer que tanto el ALA-S mitocondrial como la citoplasmática son sintetizadas en los poliribosomas y que el ALA-S citoplasmática probablemente representa la enzima en tránsito hacia la mitocondria (Hayashi y col., 1969; Granick y Sassa, 1971; Whiting y Elliot, 1972).

La mayoría de las proteínas mitocondriales tienen una vida media de alrededor de 5 días (Druyan y col., 1969). Sin embargo, la vida media del ALA-S es muy corta, siendo sólo de 34 minutos en hígado de feto de ratas (Woods, 1974), de 70 minutos en hígado de ratas adultas (Tschudy y col., 1965 a; Marver y col., 1966) y de 160 minutos en cultivo de tejido de embrión de pollo (Sassa y Granick, 1970), haciendo por ello, dificultosa su purificación. Aoki descubrió la presencia de una proteasa mitocondrial en médula ósea, altamente específica para el ALA-S (Aoki y col., 1975; Aoki, 1978). La existencia de esta proteasa mitocondrial explicaría la corta vida media de la enzima.

Teniendo en cuenta el carácter particulado y su labilidad una vez extraída de la célula, muchas de sus propiedades podrían explicarse postulando que dentro de la célula el ALA-S se encuentra asociada a mitocondrias, lo cual le proporciona una infraestructura óptima para su actividad. Cuando se separa la enzima de este ensamble natural, la proteína pierde estabilidad y se inactiva más rápidamente. Esta hipótesis ha encontrado apoyo experimental; observando que al proporcionarle a la enzima un soporte sólido y reconstituyendo así el ensamblamiento enzima-partícula que se supone existe *in vivo*, el ALA-S insolubilizada retiene su actividad por largo tiempo, a diferencia de lo que sucedía con la enzima solubilizada (Wider de Xifra y col., 1978).

El peso molecular de esta enzima varía de acuerdo a la fuente proteica y las condiciones de experimentación, entre 47.000 y 200.000 para la fracción mitocondrial (Whiting y Elliot, 1972; Paterniti y Beattie, 1979; Woods y Murthy, 1975; Aoki y col, 1974; Whiting y Granick, 1976 a).

Mediante el empleo de la electroforesis en geles de poli-acrilamida se detectó una única especie molecular para la enzima particulada; mientras que para la citoplasmática se observaron tres bandas distintas cuyos pesos moleculares fueron 120.000, 79.000 y 51.000 (Oashi y Kikuchi, 1979). Estos mismos autores demostraron que el peso molecular del componente catalíticamente activo del ALA-S citoplasmática coincidía con el del ALA-S mitocondrial presentándose la proteína como un dímero con subunidades aparentemente idénticas, de peso molecular 51.000.

Los datos sugieren que el ALA-S citoplasmática puede estar compuesta por un complejo consistente de una subunidad catalíticamente activa de peso molecular 51.000 y dos proteínas catalíticamente inactivas de pesos moleculares 79.000 y 120.000.

III.3.1.2. Mecanismo de acción del ALA-S

Se ha propuesto un mecanismo según el cual la glicocola se condensa con el fosfato de piridoxal, que es parte constituyente de la proteína enzimática, formando un carbanión estable que luego reacciona con el carboxilo electrofílico de la Succ.CoA para producir un intermediario muy inestable, el ácido α -amino β -cetoadípico, que unido a la enzima se decarboxila espontáneamente a ALA.

Recientemente, Nandi (1978 a) comprobó, por medio de estudios espectrales, la formación de una base de Schiff por interacción de la proteína con el fosfato de piridoxal. Sus resultados también aportaron fuertes evidencias a favor de la hipótesis de que un grupo crítico ϵ -aminolisil estaría involucrado en la formación de la base de Schiff entre la enzima y su cofactor. A continuación ocurriría una reacción de transaminación entre el complejo enzima-fosfato de piridoxal y la glicina (Nandi, 1978b) que origina un complejo de estructura quinoide, sugiriendo que la formación del carbanión se debe a la pérdida de un átomo de hidrógeno α de la glicina. La decarboxilación enzimática del grupo glicilcarboxilo después de la reacción de condensación de la unidad succinil forma el ácido α -amino- β -cetoadípico, un intermediario lógico en la formación de ALA (Nandi, 1978 b).

En base a estos datos se propuso un mecanismo químico probable (Figura III.4.). El paso de decarboxilación ocurre con retención de la configuración, mientras que el ataque inicial sobre la succinil-CoA se efectúa sobre el lado opuesto (liberación del protón H_R de la glicina). Esto se debe posiblemente a la naturaleza electrofílica del carbono carbonilo de la succinil-CoA.

III.3.2. Vía alternativa para la formación de ALA

Existen evidencias que demuestran que el ALA-S no es la única enzima capaz de catalizar la reacción de formación del ALA.

Beale y Castelfranco (1974), observaron que en hojas etioladas enverdecidas de cebada y porotos, y en cotiledones de

pepino, el ^{14}C del glutamato o α -cetoglutarato era incorporado al ALA, mientras que el ^{14}C de la Succ.CoA o de la glicina no se utilizaban en forma significativa. En esta reacción el C-1 del glutamato se convierte en el C-5 del ALA (Beale y col., 1975) a través del α -cetoglutarato y el γ - δ -dioxovalerato (DOVA), por acción de las transaminasas del glutamato y de la DOVA (Figura III.5.).

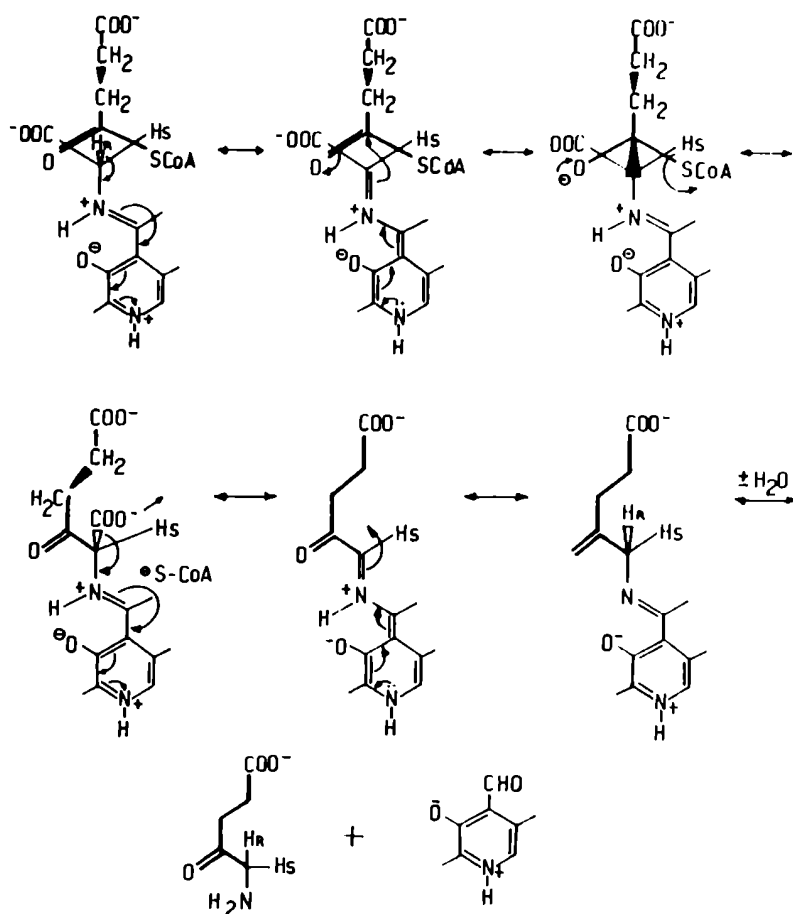


Figura III.4.: Mecanismo propuesto para la formación enzimática de ALA.

En un principio se creyó que este mecanismo alternativo de formación de ALA operaba exclusivamente en plantas superiores (Beale y Castelfranco, 1974; Lohr y Friedmann, 1976) y algas (Gassman y col., 1968; Kipe-Nolt y Stevens Jr, 1980). Sin embargo, hay evidencias de actividad de DOVA transaminasa (DOVA-T) en tejidos de origen animal (Kowalski y col., 1959; Varticovski y col., 1980) y en bacterias (Gibson y col., 1961; Bajkowski y Friedmann, 1982). Incluso, en una mutante

del alga verde *Scenedesmus obliquus* (Klein y Senger, 1978) y en *Rp. spheroides* (Kikuchi y col., 1958; Gibson y col., 1961) coexisten las dos vías de síntesis del ALA.

Si bien se desconoce el rol que desempeña esta síntesis alternativa, es probable que ambos caminos de formación de ALA estén presentes en la célula y que uno de ellos (o ambos) opere en la regulación de la síntesis de hemo y/o clorofila, según el organismo.

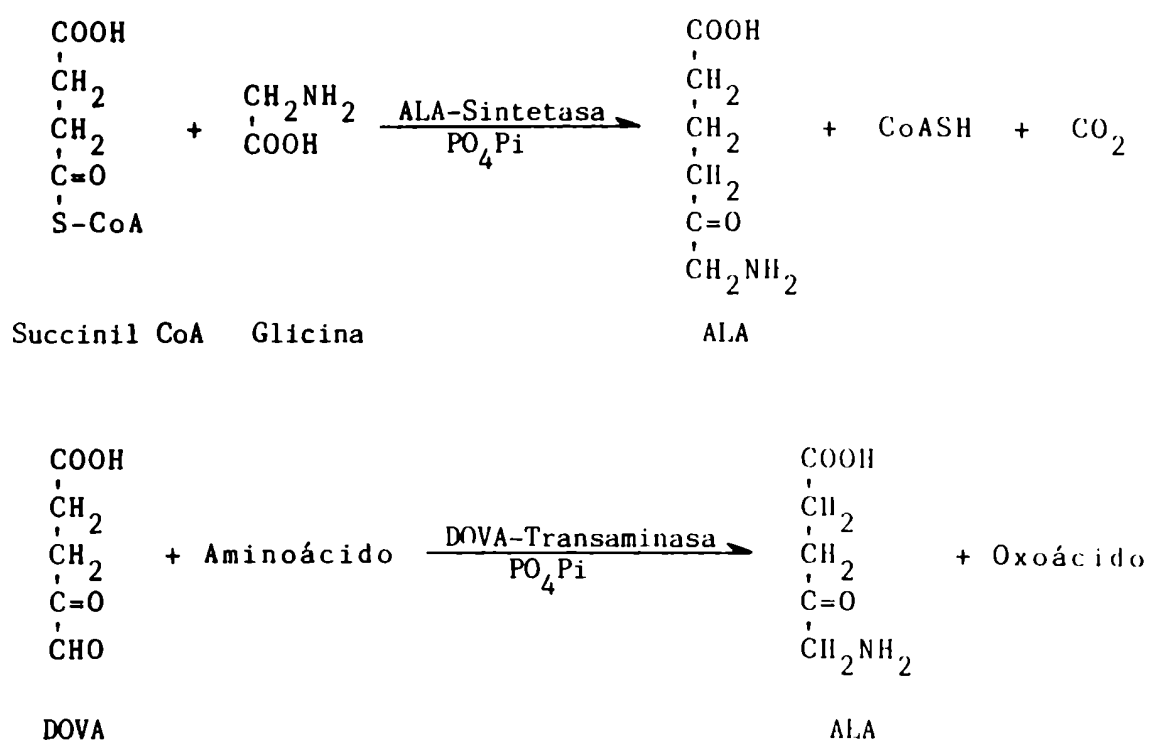


Figura III.5.: Biosíntesis de ALA. Se esquematizan las dos vías de síntesis de ALA, catalizadas por el ALA-Sintetasa y DOVA-Transaminasa, respectivamente. Ambas enzimas utilizan fosfato de piridoxal (PO_4Pi) como cofactor.

III.4. ACIDO δ -AMINOLEVULICO DEHIDRASA

III.4.1. Propiedades

El ALA formado en la mitocondria es transportado al citoplasma, donde dos moléculas de ALA se convierten en PBG, por acción de la enzima ácido δ ALA-Dehidrasa (ALA-D).

Esta enzima ha sido aislada, purificada y caracterizada a partir de las fuentes más variadas dentro de la escala zoológica y del reino vegetal, lográndose su cristalización a partir de hígado vacuno (Shemin, 1976).

En general, se comporta como una metalo-enzima termoes table y típicamente sulfhidrífica. El ALA-D purificada de eritrocitos e hígado de rata (Finelli y col., 1974, 1975) y de hígado vacuno (Cheh y Neilands, 1973; Tsukamoto y col., 1979) requiere la presencia de activadores de grupos sulfhidríficos y cinc para presentar su máxima actividad. Es inhibida por agentes bloqueantes de grupos -SH (Sassa y col., 1975 a) y quelantes tales como EDTA, que desplazan al cinc de la estructura proteica (Finelli y col., 1975; Tsukamoto y col., 1979). Otro potente inhibidor de la enzima es el plomo, cuyo accionar se revierte por el agregado de reactivos tiólicos tales como ditio treitol o por cinc (Granick y col., 1973; Finelli y col., 1975).

En la mayoría de los tejidos, el ALA-D tiene una actividad 100 veces mayor que el ALA-S; y es la que se encuentra en mayor cantidad comparada con las demás enzimas del camino biosintético del hemo. Sin embargo, una marcada inhibición en la actividad del ALA-D lleva a una disminución en la velocidad de formación del hemo (Ebert y col., 1979).

El peso molecular de la enzima proveniente de las diversas fuentes estudiadas coincide en un valor de 280.000. Mediante el empleo de agentes disociantes se encontró que el ALA-D de hígado bovino es un oligómero formado por ocho subunidades muy similares de peso molecular 35.000 (Wu y col., 1974; Shemin, 1976). Se postuló que la estructura mínima necesaria para la actividad catalítica estaría constituida por un dímero funcional compuesto de dos subunidades similares, que cumplirían un rol diferente en la síntesis de PBG (Batlle y col., 1978).

Del estudio del sitio activo del ALA-D, se vió que por subunidad funcional están involucradas, una o dos moléculas de lisina, dos residuos cisteicos, dos de histidina, y un átomo de cinc.

III.4.2. Mecanismo de acción del ALA-D

En 1968, el grupo de Shemin (Nandi y Shemin, 1968) propuso un esquema que en principio aún tiene validez; sin embargo, en base a evidencias experimentales obtenidas posteriormente, el esquema ha sido modificado. En la Figura III.6. se ilustra el mecanismo de acción del ALA-D postulado por Batlle y Stella (1978). En el esquema general, dos moléculas de ALA se condensan por medio de una síntesis de pirroles de Knorr. Recientemente, Jordan y Seehra (1980) han demostrado que la primera molécula de sustrato que se une a la enzima es la que aporta la cadena propiónica del PBG (Jordan y Seehra, 1980); mientras que la segunda molécula de ALA que se une a la proteína, es la que forma una base de Schiff entre el grupo carbonilo en γ del ALA y un ϵ -amino de una lisina del sitio activo de la enzima, aportando de esta forma, el grupo acético a la molécula del pirrol.

III.5. PORFOBILINOGENASA

III.5.1. Propiedades

Lockwood y Rimington (1957) designaron con el nombre de Porfobilinogenasa (PBG-asa) al complejo enzimático que cataliza la ciclación de cuatro moléculas de PBG para dar el Uroporfirinógeno III, intermediario fisiológico en la biosíntesis del Hemo, Clorofilas y Corrinas (Figura II.4.).

La PBG-asa es un complejo enzimático formado al menos por dos enzimas diferentes, la Uroporfirinógeno I Sintetasa o Deaminasa, proteína termoestable, y la Uroporfirinógeno III Cosintetasa o Isomerasa, proteína termolábil.

La Deaminasa cataliza la condensación de cuatro moléculas de PBG para formar el tetrapirrol cíclico simétrico, Uro-

porfirinógeno I. La Isomerasa, en presencia de la Deaminasa, lleva a la formación del Uroporfirinógeno III, en el cual tres de los pirroles están condensados cabeza-cola y el cuarto se encuentra en posición invertida.

Este sistema enzimático se ha detectado en tejidos de fuentes muy diversas tales como bacterias, algas, protozoos, plantas superiores, hígado bovino y eritrocitos de conejo, de aves y humanos (Batlle y Rossetti, 1977).

Tanto la PBG-asa como sus componentes Deaminasa e Isomerasa se han aislado, purificado y caracterizado a partir de numerosos tejidos (Rossetti, 1978).

En la mayoría de los tejidos estudiados la PBG-asa se presenta como una enzima citoplasmática (Batlle y Rossetti, 1977) y sulfhidrónica (Sancovich y col., 1969; Llambías y Batlle, 1971 a, b; Frydman y Feinstein, 1974).

La Deaminasa es altamente específica para el PBG. Tanto la PBG-asa como sus componentes se inhiben por compuestos básicos como el amonio, hidroxilamina o alquilaminas, postulándose que de alguna manera estos agentes bloquearían, bien el sitio de unión del PBG a la enzima o bien la entrada de nuevas moléculas de PBG sobre el polipirrol naciente para formar el tetrapirrol, o aún más, podrían interferir de alguna forma con la asociación Deaminasa-Isomerasa (Stella y col., 1971).

Se observó que el complejo de la PBG-asa presenta características de una proteína alostérica, presentando en algunos tejidos cooperatividad positiva (Sancovich y col., 1969; Llambías y col., 1971) y en otros casos cooperatividad negativa (Llambías y Batlle, 1970).

La determinación del peso molecular de la Deaminasa de distintas fuentes condujo a un valor de 40.000 (Llambías y Batlle, 1971 a; Jordan y Shemin, 1973; Higuchi y Bogorad, 1975; Sancovich y col., 1976; Miyagi y col., 1979; Anderson y Desnick, 1980; Rossetti y col., 1980; Williams y col., 1981; Fumagalli y col., 1985). Sin embargo, Frydman y Feinstein (1974) encontraron un peso molecular de 25.000 para la enzima proveniente de eritrocitos humanos.

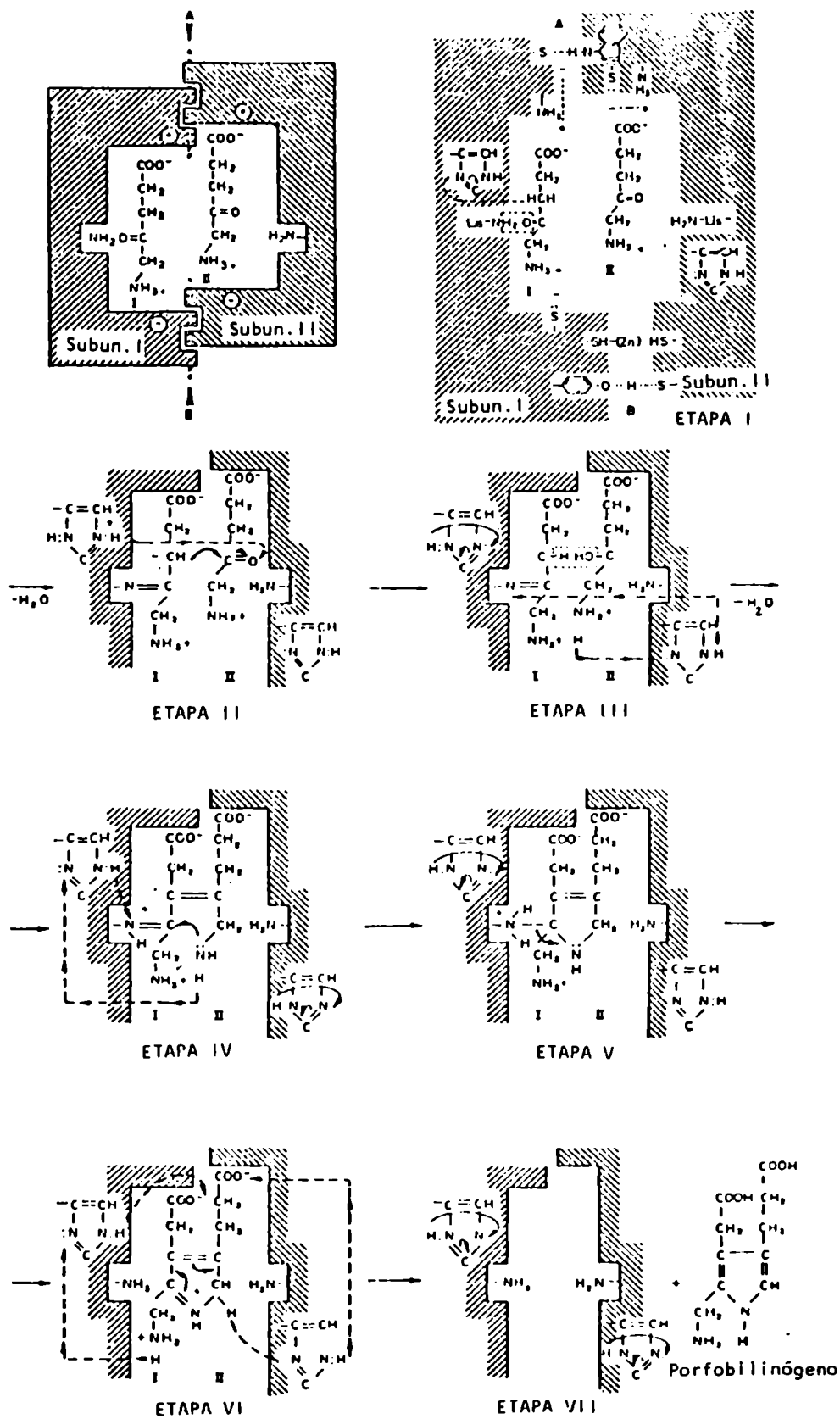


Figura III.6.: Mecanismo de acción del ALA-D

Es interesante destacar que se han encontrado múltiples formas para la Deaminasa de eritrocitos humanos (Anderson, 1979; Anderson y Desnick, 1980; Miyagi y col, 1979). Por medio de una cromatografía de intercambio aniónico o utilizando electroforesis en gel de poliacrilamida se logró separar a la enzima en cinco formas (Anderson y Desnick, 1980; Miyagi y col, 1979), las cuales fueron designadas como Deaminasa A, B, C, D y E que representarían las modificaciones que sufre la especie nativa cuando se van formando intermediarios en la secuencia de condensación de las cuatro moléculas de PBG para formar Urogen I (Anderson y Desnick, 1980); proponiéndose que estas múltiples formas serían isoenzimas con distintas cargas (Miyagi y col., 1979).

La purificación de Isomerasa resultó ser más difícil que la de la Deaminasa, debido probablemente a su inestabilidad. Esta enzima fue parcialmente purificada de espinaca (Bogorad, 1958 a y b) y de *Rp. spheroides* (Hoare y Heath, 1958). La Isomerasa purificada de germen de trigo tiene un peso molecular de alrededor de 62.000 (Higuchi y Bogorad, 1975). La enzima purificada de *Euglena gracilis* resultó ser un polipéptido de peso molecular 5.000, el cual se agrega con facilidad en solución (Rossetti y col., 1980).

III.5.2. Mecanismo de acción de la PBG-asa

Hay evidencias de que existen por lo menos dos sitios catalíticos distintos por mol de PBG-asa y que la reacción de polimerización de las cuatro moléculas de PBG ocurre en dos etapas; primero parece formarse un intermediario polipirrólico, que en una segunda fase produce finalmente Uroporfirinógeno (Llambías y Batlle, 1970 b). En ciertos tejidos se han detectado y aislado estos intermediarios polipirrólicos (Llambías y Batlle, 1970 c; Rossetti y Batlle, 1977; Rossetti y col., 1977) que varían en longitud y estructura según la fuente y tipo de reacción. Cuando se utiliza el sistema enzimático completo y PBG como único sustrato, se producen intermediarios di, tri o tetrapirrólicos normales, es decir que ya llevan preformada la estructura del isómero III, en los cuales la inversión ha ocurrido a nivel de la primera condensación.

En cambio, cuando se emplea Deaminasa y PBG, los intermediarios aislados que se consideran como anormales desde el punto de vista del camino normal del hemo, no están isomerizados y su estructura corresponde a una condensación secuencial cabeza-cola (Batlle y Rossetti, 1977).

Por incubación de Deaminasa con PBG en presencia de inhibidores típicos como amonio e hidroxilamina, también se han logrado acumular y aislar intermediarios di y tetrapirrólicos no isomerizados (Batlle y Rossetti, 1977). En forma paralela, se han obtenido por síntesis química, la mayoría de los pirrilmetanos postulados como intermediarios y sus análogos de cadena abierta; llegándose a la conclusión de que aquellos que poseen el tipo de los di, tri o tetrapirrilmetanos de la serie III pueden actuar como intermediarios normales en la síntesis de Uroporfirinógeno III, mientras que los de la serie I, sólo pueden incorporarse en el Uroporfirinógeno I, a la vez que inhiben la formación de Uroporfirinógeno III.

Teniendo en cuenta todas las evidencias experimentales reunidas hasta el presente, uno de los mecanismos de acción postulado para la PBG-asa se ilustra en la Figura III.7.

Hasta el presente, habría acuerdo en cuanto a la existencia de los intermediarios aminopirrilmetanos. Sin embargo, se difiere fundamentalmente en cuanto al momento en el cual ocurre la isomerización, ya que el grupo de Battersby (Battersby y col., 1977 a, b y c) sugiere que el proceso de reordenamiento tendría lugar después de la formación de un bilano lineal no isomerizado, mientras que las propuestas de nuestro laboratorio (Llambías y Batlle, 1970 c, 1971 b; Batlle y Rossetti, 1977; Rossetti y Batlle, 1977; Rossetti y col., 1977; Rossetti, 1978) y de Frydman (Frydman y Frydman, 1975 a y b) indican que la isomerización podría ocurrir en la etapa inicial de condensación de las dos primeras moléculas de PBG. Sin embargo, un análisis más cuidadoso de nuestros resultados experimentales, en particular los obtenidos con las enzimas de *Euglena gracilis* (Rossetti y col., 1977; Rossetti, 1978) nos indica que éstos también podrían interpretarse de acuerdo a la hipótesis de Battersby. Scott y col. (Burton y col., 1979; Scott y col., 1980) análogamente a lo propuesto por Battersby, encontraron que la Deaminasa forma un Preuroporfirinógeno, el cual sería el sustrato natural de la Isomerasa (Jordan y col, 1979) (Figura III.8.).

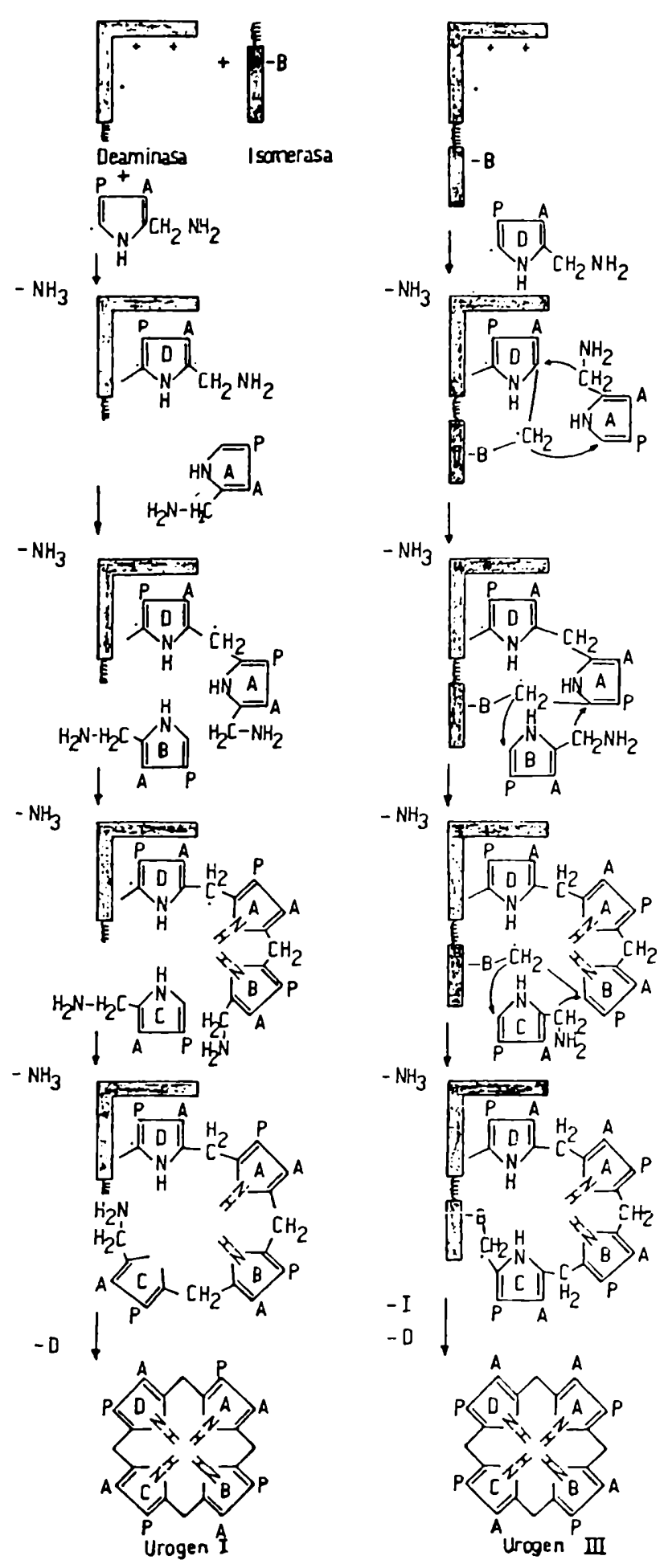


Figura III.7.: Mecanismo propuesto para la formación enzimática de Urogen porfirinógenos I y III a partir de PBG.

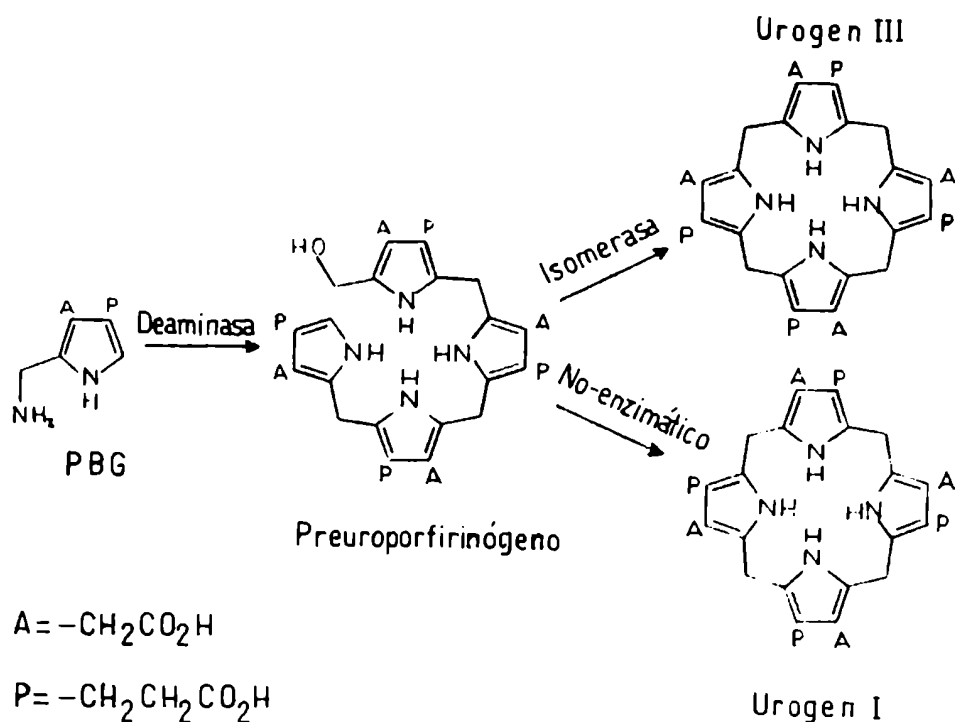


Figura III.8.: Formación de Preuroporfininógeno por acción de la Deaminasa.

Más recientemente, Battersby y col. (1980) postularon que la Isomerasa actuaría sobre el hidroximetilbilano produciendo la isomerización en el anillo D, seguido de una rápida ciclización.

Posteriormente, el grupo de Jordan realizó estudios tendientes a determinar el modo de unión del PBG a la Deaminasa empleando la enzima purificada de *Rp. spheroides*. Detectaron, luego de incubaciones con cantidades estequiométricas crecientes de ¹⁴C-PBG bandas proteicas con movibilidades electroforéticas ligeramente diferentes, que atribuyeron a intermediarios enzima-sustrato con 1, 2 y 3 moléculas de PBG unidas (Berry y Jordan, 1981).

Casi simultáneamente, Anderson y Desnick (1980) habían publicado un trabajo acerca de la aparición de múltiples formas activas de la Deaminasa al purificar la enzima de eritrocitos humanos e incubarla con exceso de PBG, señalando que las mismas corresponderían a intermediarios enzima-sustrato con 1, 2, 3 y 4 moléculas de PBG.

Jordan y Berry (1981) demostraron que el complejo formado entre la Deaminasa y cantidades estequiométricas de PBG, era un intermediario unido covalentemente y que posiblemente

sólo el PBG que forma el anillo A del Preuroporfirinógeno es el que está unido en forma covalente a la enzima.

En cuanto al mecanismo de acción de la Deaminasa se han planteado varias hipótesis, entre las cuales surge como la más probable la que involucra un único sitio catalítico que se usa varias veces (Seehra y Jordan, 1980).

III.6. UROPORFIRINOGENO DECARBOXILASA

III.6.1. Propiedades

La Uroporfirinógeno Decarboxilasa cataliza la decarboxilación de las cuatro cadenas laterales de ácido acético del Uroporfirinógeno a cuatro restos metílicos del Coproporfirinógeno (Granick y Mauzerall, 1958 b). A esta enzima se la conoce también como Uroporfirinógeno-carboxilasa o simplemente Decarboxilasa (URO-D).

Durante la decarboxilación enzimática, empleando Uroporfirinógeno III ó I se detecta la presencia de intermediarios con 7, 6 y 5 carboxilos (Batlle y Grinstein, 1962, 1964).

La Decarboxilasa fue estudiada en *Chlorella vulgaris* (Bogorad, 1955, 1958; Granick, 1955 b), *Rp. spheroides* (Hoare y Heath, 1958; Chu y Chu, 1970), bazo de ratón (Romeo y Levin, 1971), eritrocitos de aves (Falk y col., 1956; Neve y col., 1956; Hoare y Heath, 1958; García, 1973) y humanos (Conford, 1964; Rasmussen y Kushner, 1979; de Verneuil y col., 1980; Elder, 1982), glándula de Harder (Tomio y Grinstein, 1968); hígado de rata (Smith y Francis, 1979, 1981; Aragonés y col., 1972; Kardish y Woods, 1980); hígado de cerdo y reticulocitos de conejo (Mauzerall y Granick, 1958).

En todos los tejidos estudiados la Decarboxilasa resultó ser una enzima citoplasmática, sulfhidrúlica, termolábil y de alta especificidad sobre los grupos acético. Sin embargo, la enzima puede decarboxilar los cuatro isómeros del Uroporfirinógeno, aunque con distinta velocidad en el siguiente orden decreciente: III > IV > II > I (Granick y Mauzerall, 1958 b; Conford, 1964; Smith y Francis, 1979).

La afinidad de la enzima parece decrecer con la dismi-

nución del número de grupos carboxilo del sustrato. Se encontró, además, que el Km para el isómero III es siempre mayor que para el isómero I (de Verneuil y col., 1980).

La actividad enzimática es inhibida *in vitro* por Hg^{++} , Cu^{++} , iodoacetamida y p-cloromercuribenzoato, pudiendo ser revertida esta inhibición por glutatión reducido, lo cual confirma que la Decarboxilasa es una enzima sulfhidrúlica.

El oxígeno inhibe en forma significativa a la enzima. Este efecto es atribuido (Mauzerall y Granick, 1958) a una oxidación de los sustratos, los porfirinógenos, aunque no puede descartarse una acción directa del mismo sobre la enzima (Mauzerall y Granick, 1958; Bogorad, 1958; Hoare y Heath, 1958; Batlle y Grinstein, 1964; San Martín de Viale y Grinstein, 1968; Tomio y col., 1970).

Existen varios hechos experimentales que apoyan la teoría de que la decarboxilación de los Uroporfirinógenos es un proceso en etapas. Desde hace mucho tiempo se había observado que en pacientes con Porfiria Cutánea Tarda se podían aislar porfirinas con 7, 6 y 5 carboxilos. En 1962, Batlle y Grinstein identificaron la porfirina biosintética de 7 carboxilos, a la cual denominaron Firiaporfirina. Además, mediante marcación con ^{14}C demostraron que el heptaporfirinógeno era un intermediario entre el Uroporfirinógeno y el Coproporfirinógeno. También la enzima puede actuar sobre los distintos isómeros de los porfirinógenos con 7, 6 y 5 carboxilos.

III.6.2. Rutas de decarboxilación de la Decarboxilasa

Aún no se conoce el mecanismo mediante el cual se produce la decarboxilación del resto acetato a metilo. Sólo se ha conseguido dilucidar la ruta de decarboxilación del Uroporfirinógeno III a Coproporfirinógeno III. Teóricamente, al decarboxilarse las cuatro cadenas acetato podrían formarse cuatro porfirinas heptacarboxílicas, seis hexacarboxílicas y cuatro pentacarboxílicas resultando así, 24 rutas posibles. En el laboratorio del Profesor Jackson se pudieron sintetizar todos los intermediarios y con ellos, establecer cuál de las 24 rutas posibles era la natural (Jackson y col., 1976). De los resultados de estas experiencias se llegó a la conclusión que la decarbo-

xilación tiene lugar de manera tal que el Uroporfirinógeno III se ubicaría sobre la enzima, iniciándose la reacción sobre el resto acetato del anillo D y continuando luego sobre los restos acetato de los anillos A, B y C (Figura III.9.), es decir que el proceso de decarboxilación enzimática del Urogen III, ocurriría de tal manera que el sustrato ubicado en el sitio activo de la enzima se desplazaría sobre la superficie de la misma, en el sentido de las agujas del reloj. En cuanto a la decarboxilación enzimática del Uroporfirinógeno I en Coproporfirinógeno I, existen dos únicas rutas posibles para la decarboxilación de este isómero (Figura III.10.), que pueden ocurrir indistintamente (Jackson y col., 1977).

III.7. COPROPORFIRINOGENASA

III.7.1. Propiedades

La conversión de Coproporfirinógeno III a Protoporfirinógeno IX, mediante la decarboxilación oxidativa de los dos grupos de ácido propiónico a vinilos, se lleva a cabo por la Coproporfirinogenasa (CPG-asa), Coproporfirinógeno-Decarboxilasa, Coproporfirinógeno-Oxidasa, o simplemente Coprogenasa.

En todas las células estudiadas, la Coprogenasa se presenta como una enzima mitocondrial. Es altamente específica para Coproporfirinógeno III, ya que no utiliza Coproporfirinógeno I ni Coproporfirinógeno II como sustratos (Porra y Falk, 1964). Sin embargo, puede emplear el isómero IV, no fisiológico, dando como producto final Protoporfirina XIII (Al-Hazimi y col., 1976).

La enzima tiene requerimiento absoluto por el oxígeno molecular (Sano y Granick, 1961), si bien en organismos estrictamente anaeróbicos capaces de biosintetizar porfirinas debe existir un mecanismo que lleve a la formación de Protoporfirinógeno. Se detectó actividad de Coprogenasa de *Rp. spheroides* (Tait, 1972), donde la enzima puede actuar en condiciones de aerobiosis y anaerobiosis, utilizando para este último caso un sistema constituido por ATP, Mg^{++} y L-metionina, que actúa como aceptor de hidrógenos.

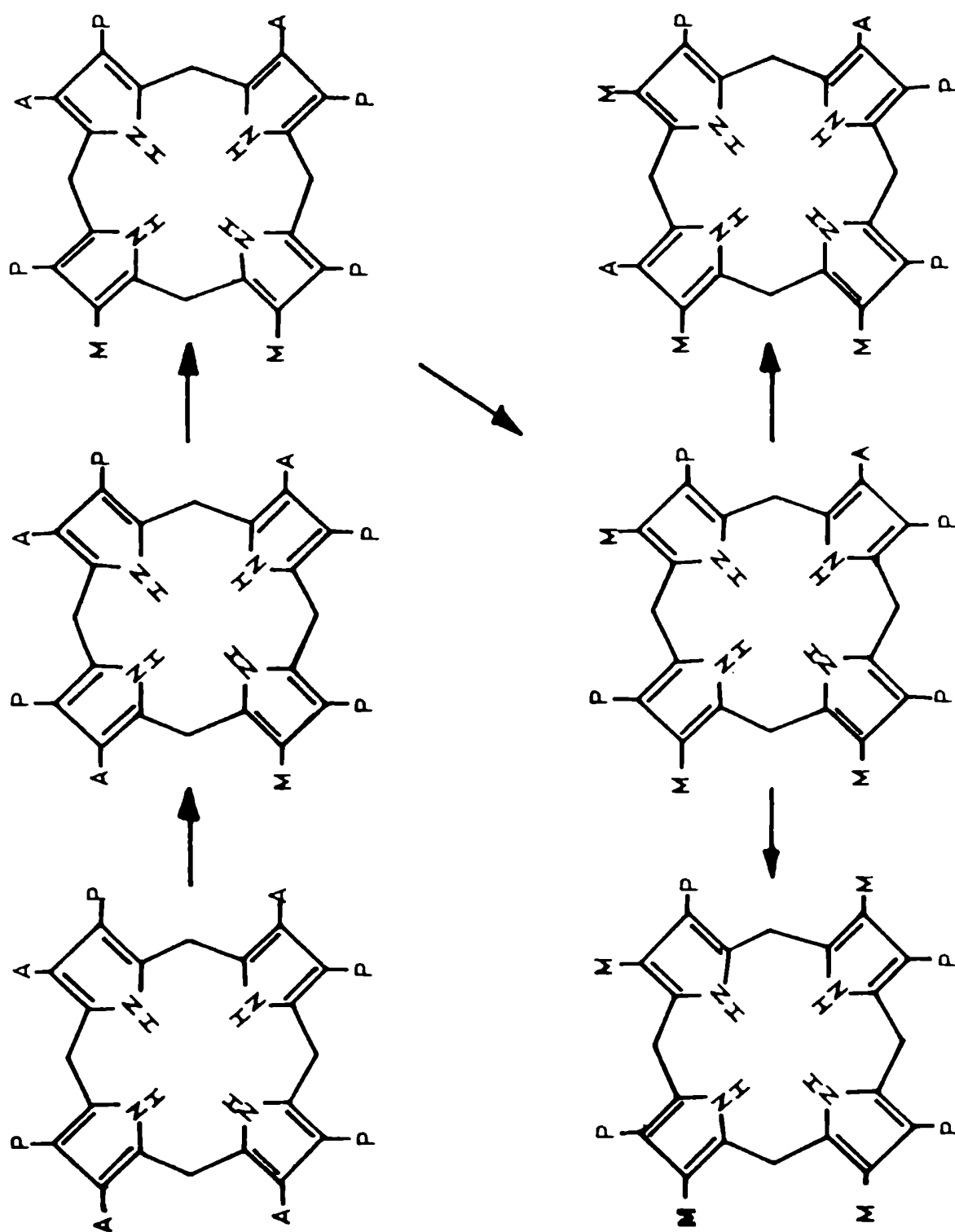


Figura III.9.: *Decarboxilación enzimática del Uroporfirínógeno III.*

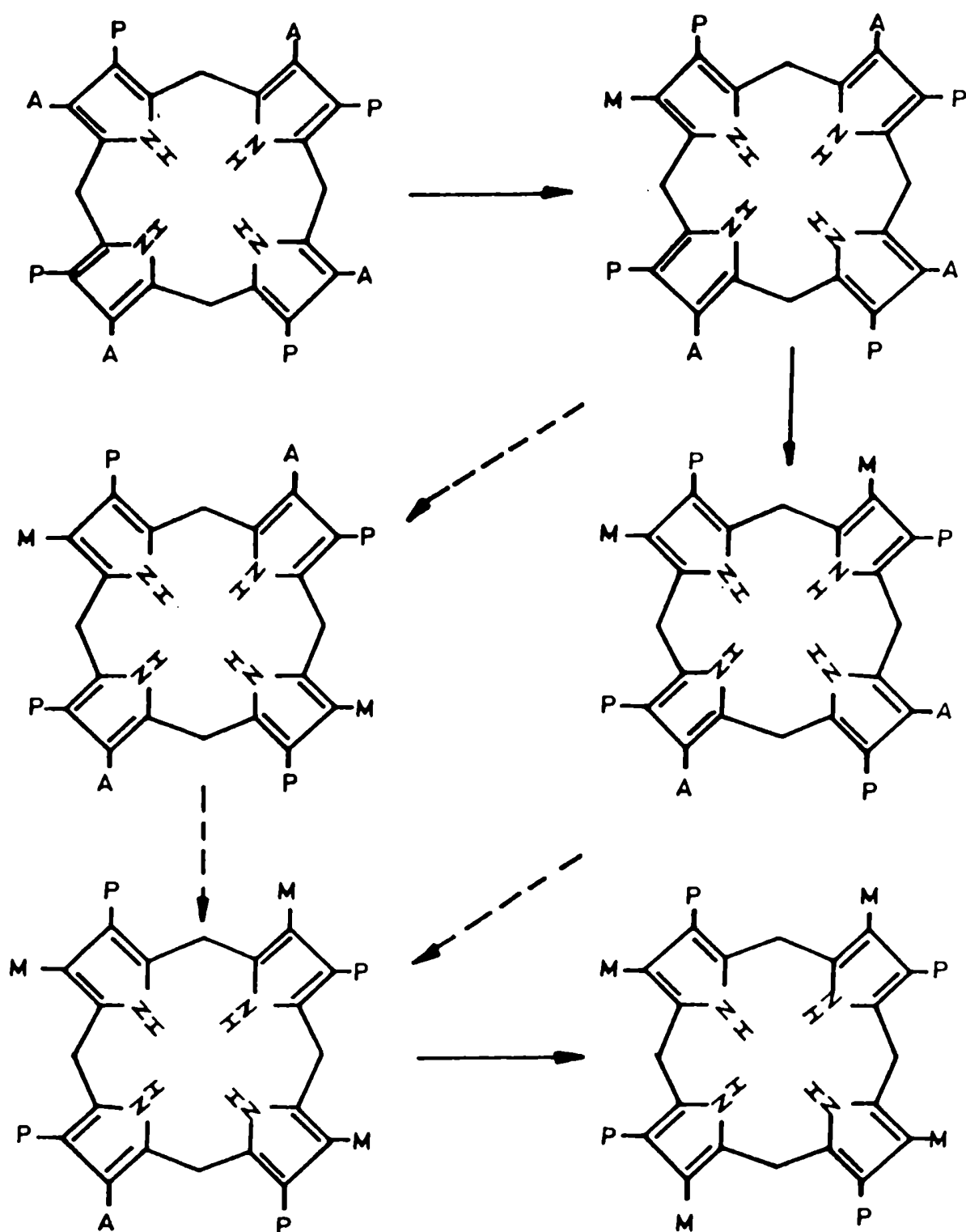


Figura III.10.: Decarboxilación enzimática del Uroporfirínógeno I en Coproporfirínógeno I.

La Coprogenasa fue estudiada en *Chlorella vulgaris* (Granick, 1955), hemolizados de eritrocitos de aves (Dressel y Falk, 1956), *Euglena gracilis* (Granick y Mauzerall, 1958), hígado vacuno (Sano, 1958; Sano y Granick, 1961; Porra y Falk, 1964); hígado de rata (Batlle y col., 1965; Elder y col., 1978; Grandchamp y col., 1978), linfocitos humanos (Grandchamp y Nordmann, 1977) y bazo de rata (Kardish y Woods, 1980).

Las determinaciones del peso molecular parecen coincidir en un valor de 80.000 (Batlle y col., 1965; Poulson y Polglase, 1974; Yoshinaga y Sano, 1980). Mediante el empleo de agentes disociantes se ha determinado que es una proteína monomérica (Yoshinaga y Sano, 1980).

Del estudio de la estructura primaria proteica se encontró que la Coprogenasa es rica en residuos de aminoácidos aromáticos.

A pesar de tener 9,5 residuos -SH por mol de enzima, su actividad no se altera en forma significativa por reactivos sulfhidrúlicos.

III.7.2. Mecanismo de acción de la Coprogenasa

A partir de diversas fuentes, naturales y biosintéticas, se ha aislado una porfirina tricarboxílica, que resultó ser un derivado de la Coproporfirina III, con un resto vinilo en la posición 2 del anillo A (Kennedy y col., 1970 a y b). Con estos aportes y con la ayuda de análogos sintéticos (Games y col., 1976) se propuso que la decarboxilación oxidativa de los restos propionato es un proceso en etapas, el cual comenzaría por el anillo A, siguiendo, como en el caso de la Decarboxilasa, el sentido de las agujas del reloj.

Rimington y Tooth (1961) habían postulado que una acrílico porfirina podría ser el intermediario de la reacción, sin embargo, el isómero trans de la 2,4-acrílico Deuteroporfirina no actúa como sustrato (Sano y Granick, 1961; Batlle y Rimington, 1966). Restaba aún la posibilidad de que el isómero cis fuera el verdadero intermediario (Batlle y col., 1965). Batlle y Rimington (1966), propusieron que la primera etapa en este proceso era una oxidación del resto propionato a un α -OH pro-

pionato (Figura III.11.); en 1966 Sano sintetizó una mezcla de isómeros de este compuesto, y demostró su incorporación en Protoporfirina por acción de la Coprogenasa.

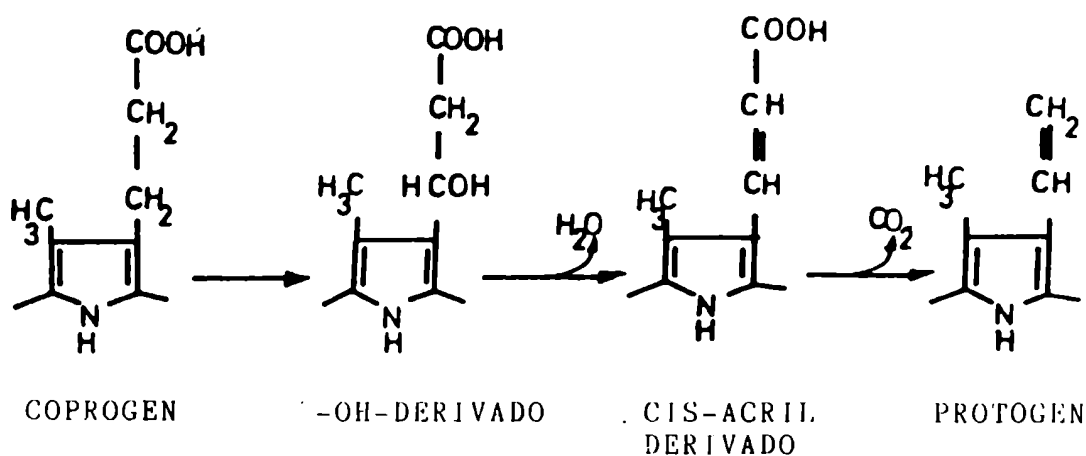


Figura III.11.: Mecanismo de decarboxilación del Coproporfinógeno III en Protoporfinógeno IX.

En 1970, French y col., aislaron, de materiales biológicos, la porfirina S-411, cuya estructura respondía a la de una porfirina tricarboxílica derivada de la Coproporfirina III, con un sustituyente cis-acrilato en la posición 2 del anillo A.

Estudios posteriores realizados por Zaman y col. (1972) empleando precursores marcados específicamente, indicaron que la porfirina S-411 no sería un intermediario normal. Jackson y col., (1976), interpretaron estos resultados sugiriendo que la S-411 podría provenir de un camino anormal y que el α-OH propionilderivado podría eliminar agua y decarboxilarse simultáneamente a vinilo. Sin embargo, no puede descartarse que la ruta esquematizada en la Figura III.11. sea la real.

Estudios cinéticos realizados recientemente con preparaciones crudas y purificadas de distintas fuentes, han aportado evidencias acerca de la formación de intermediarios hidroxilados, derivados del Coproporfinógeno III (Jackson y col., 1980). Usando la enzima purificada de hígado de vaca, Yoshinaga y Sano (1980) demostraron que la conversión de los grupos propionato a vinilos ocurre en etapas, de la posición 2 a la 4,

mediante la formación de un β -OH propionilporfirinógeno como intermediario.

III.8. PROTOPORFIRINOGENO OXIDASA

La Protoporfirinógeno IX Oxidasa o Protogen Oxidasa cataliza la deshidrogenación del Protoporfirinógeno IX a Protoporfirina IX (Proto IX), por pérdida de seis átomos de hidrógeno (Figura III.12.).

En 1973, Poulson y Polglase postularon que un pigmento detectado en *S. cerevisiae*, que presentaba una típica banda de absorción en el espectro visible a 503 nm, por lo cual fue designado con el nombre de P-503, era un posible intermediario en la biosíntesis de Protoporfirina IX; comprobando más tarde que era una prototetrahidroporfirina IX (Kamitabahara y col., 1973). Este mismo grupo purificó y caracterizó a la enzima de *S. cerevisiae* y de mitocondrias de hígado de rata resultando ser una proteína mitocondrial, sulfhidrónica y termolábil, que no utiliza como sustratos al Coproporfirinógeno I ó III, ni al Uroporfirinógeno I ó III, con un requerimiento por oxígeno molecular para demostrar su actividad (Poulson y Polglase, 1975).

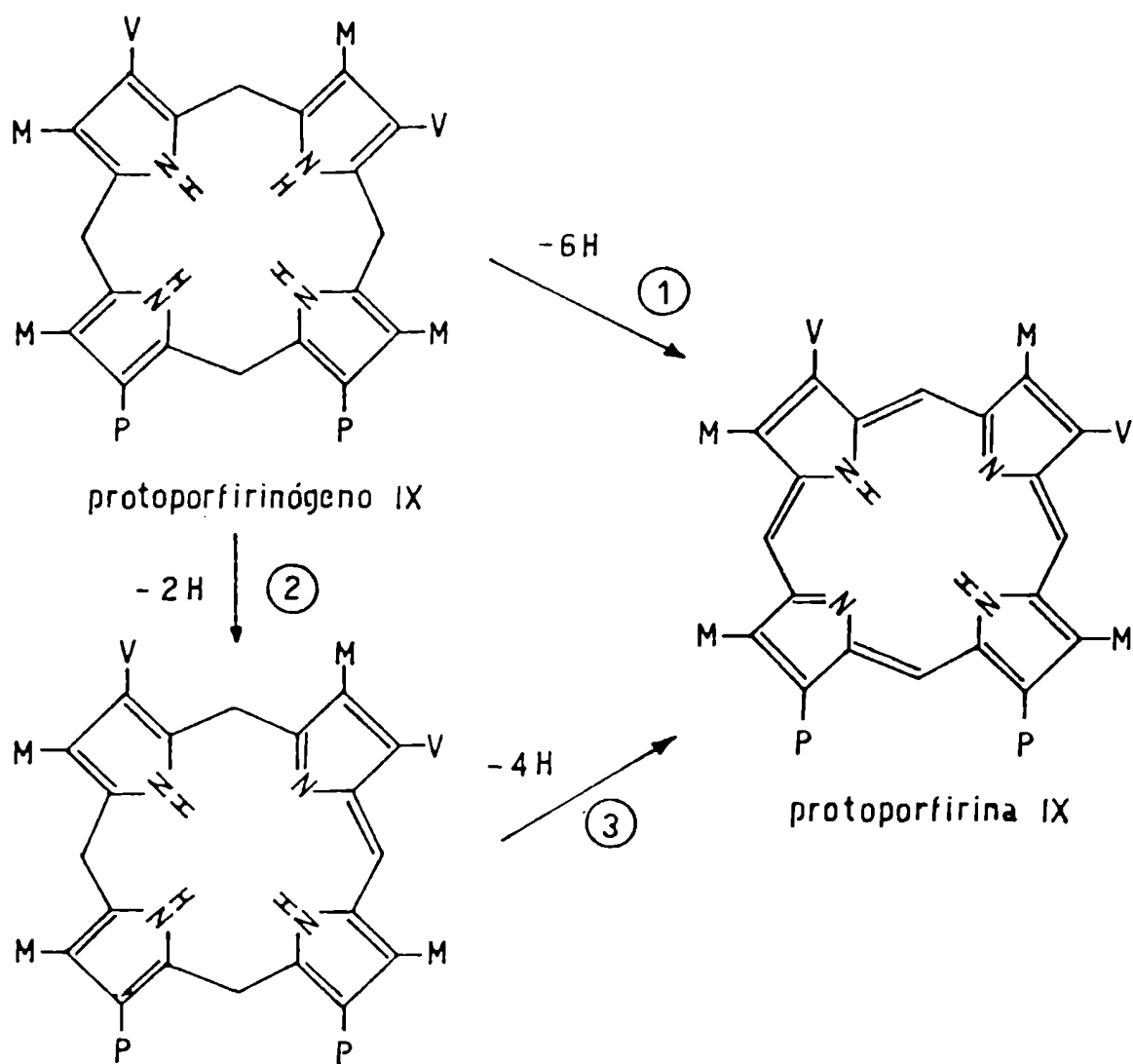
El peso molecular de la enzima proveniente de *S. cerevisiae* y de hígado de rata resultó ser de 180.000 y 35.000 respectivamente (Poulson y col., 1975; Poulson, 1976).

III.9. FERROQUELATASA

La etapa final en la biosíntesis del hemo es la inserción del hierro en la Protoporfirina IX. La enzima que cataliza este paso es la Ferroquelatasa, conocida también como Hemo-sintetasa o Protohemoferroliasa.

El estudio de la quelación enzimática de las porfirinas con metales es complejo, dado que la velocidad de reacción no enzimática es significativamente alta y depende de las condiciones experimentales. Es por eso que en un principio fue discutida la existencia de esta enzima; sin embargo la naturaleza enzimática de la reacción fue confirmada en 1956 por dos

grupos de trabajo (Krueger y col., 1956; Goldberg y col., 1956) quienes a partir de allí encontraron incorporación de $^{59}\text{Fe}^{++}$ en hemo.



P 503

① y ③ Protogen oxidasa

② autooxidación

Figura III.12.: Esquema de la formación de Protoporfirina IX a partir de Protoporfirinógeno IX.

La Ferroquelatasa fue estudiada en una gran variedad de tejidos que incluyen: hígado de cerdo (Jones y Jones, 1970) y de rata (Labbe y Hubbard, 1961; Porra y Jones, 1963; Yoneyama y col., 1965; Llambías, 1976); eritrocitos de aves (Goldberg y col., 1956; Krueger y col., 1956; Minakami y col., 1959; Yoneyama y col., 1962; Hanson y Dailey, 1984); levaduras (Reithmueller y Tuppy, 1964), *Rp. spheroides* (Porra y Lascelles, 1965), *Chromatium D*, *Thiobacillus X*, *E. coli*, *Clostridium welchii* y *S. cerevisiae* (Porra y Jones, 1963); semillas de cebada etioladas (Goldin y Little, 1969); mitocondrias de papa, hojas de habas, de avena, de espinaca (Porra y Lascelles, 1965; Jones, 1968); en médula ósea humana (Bottomley, 1968) y hepatocitos de ratón (Cole y col., 1981).

La Ferroquelatasa es una enzima particulada, sulfhidrónica, con un requerimiento por el fosfato de piridoxal. Respecto a su especificidad es absolutamente específica por el hierro, lo cual es muy significativo dado que *in vivo*, la enzima debe seleccionar al hierro frente a una posible serie de cationes divalentes. En cuanto a la especificidad por las porfirinas, además de la Proto IX, la Mesoporfirina y Deuteroporfirina pueden actuar como sustratos, pero en la célula sólo se encuentra disponible la Protoporfirina y por lo tanto no se forman otros hemo-derivados (Johnson y Jones, 1964; Jones y Jones, 1969; Porra y Jones, 1963).

Se ha propuesto que la Ferroquelatasa es una lipoproteína, ya que la extracción de lípidos inactiva la enzima y el agregado de fracciones fosfolipídicas aumentan su actividad hasta llevarla a valores normales (Yoshikawa y Yoneyama, 1964; Sawada y col., 1969).

III.10. REFERENCIAS

- Al-Hazimi, H.; Jackson, A. & Ryder, D. J. Chem. Soc. Chem. Comm. (1976) 188.
- Anderson, P. en "A dissertation submitted to the Graduate Faculty in Biomedical Sciences in partial fulfillment of the requirement for the degree of Doctor of Philosophy" (1979) The City University of New York.
- Anderson, P. & Desnick, R. J. Biol. Chem. 255 (1980) 1993.
- Aoki, Y. J. Biol. Chem. 253 (1978) 2026.
- Aoki, Y.; Urata, G.; Takaku, F. & Katsumuma, N. Biochem. Biophys. Res. Comm. 65 (1975) 567.
- Aoki, Y.; Wada, O.; Urata, G.; Takaku, F. & Nakao, K. Biochem Biophys. Res. Comm. 42 (1974) 468.
- Aragonés, A.; García, R.; San Martín de Viale, L; Tomio, M. & Grinstein, M. An. Asoc. Qca. Arg. 60 (1972) 239.
- Bajkowski, A. & Friedmann, H. J. Biol. Chem. 257 (1982) 2207.
- Batlle, A.M. del C.; Benson, A. & Rimington, C. Biochem. J. 97 (1965) 731.
- Batlle, A. & Grinstein, M. Biochim. Biophys. Acta 62 (1962) 197.
- Batlle, A. & Grinstein, M. Biochim. Biophys. Acta 82 (1964) 13.
- Batlle, A.; Llambías, E.; Wider de Xifra, E. & Tigier, H. Int. J. Biochem. 6 (1975) 591.
- Batlle, A. & Rimington, C. Ciencia e Inv. 22 (1966) 369.
- Batlle, A. & Rossetti, M. Int. J. Biochem. 8 (1977) 251.
- Batlle, A. & Stella, A. Int. J. Biochem. 9 (1978) 861.
- Batlle, A.; Stella, A.; Ferramola, A.; Sopena, Y.; Wider de Xifra, E. & Sancovich, H. Int. J. Biochem. 9 (1978) 401.
- Batlle, A.; Xifra, E. & Magnin, P. en: "Porfirinas y Porfirias. Etiopatogenia, Clínica y Tratamiento" (1981) EUDEBA.
- Battersby, A.; Mc Donald, E.; Williams, D. & Wrziger, H. J. Chem. Soc. Chem. Comm. 113 (1977 a).

- Battersby, A.; Buckley, D.; Mac Donald, E. & Williams, D.
J. Chem. Soc. Chem. Comm. 115 (1977 b).
- Battersby, A.; Johnson, O.; Mc Donald, E. & Williams, D.
J. Chem. Soc. Chem. Comm. 117 (1977 c).
- Battersby, A.; Fookes, C.; Matcham, G. & Mc Donald, E.
Nature 285 (1980) 17.
- Beale, S. & Castelfranco, P. Plant Physiol. 53 (1974) 297.
- Beale, S.; Gough, S. & Granick, S. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 72
(1975) 2719.
- Berry, A. & Jordan, P. Biochem. Soc. Trans. 9 (3) (1981) 593.
- Bogorad, L. Science 121 (1955) 878.
- Bogorad, L. J. Biol. Chem. 233 (1958) 516.
- Bottomley, S. Blood 31 (1968) 314.
- Burton, G.; Fagerness, P.; Hosozawa, S.; Jordan, P. & Scott,
J. J. Chem. Soc. Chem. Comm. (1979) 202.
- Cole, S.; Massey, T.; Marks, G. & Racz, W. Can. J. Physiol.
Pharmacol. 59 (1981) 1155.
- Conford, P. Biochem. J. 91 (1964) 64.
- Cheh, A. & Neilands, J. Biochem. Biophys. Res. Commun. 55 (1973)
1060.
- Chu, T. & Chu, E. Biochim. Biophys. Acta 215 (1970) 377.
- De Verneuil, H.; Grandchamp, B. & Nordmann, Y. Biochim.
Biophys. Acta 611 (1980) 174.
- Dressel, E. & Falk, J. Biochem. J. 63 (1956) 80.
- Druyan, R.; De Bernard, B. & Rabinowitz, M. J. Biol. Chem.
244 (1969) 5874.
- Ebert, P.; Hess, P.; Frykholm, B. & Tschy, D. Biochem.
Biophys. Res. Comm. 88 (1979) 1382.
- Elder, G. en: "Abstracts VIIth Tetrapyrrole Meeting (1982)
Southampton.
- Elder, G.; Evans, J.; Jackson, J. & Jackson, A. Biochem. J. 169
(1978) 215.
- Falk, J.; Dressel, E.; Benson, A. & Knight, B. Biochem. J.
63 (1956) 87.
- Finelli, V.; Klauder, D.; Karaffa, M. & Petering, H. Biochem.
Biophys. Res. Commun. 65 (1975) 303.

- Finelli, V.; Murthy, L.; Peirand, W. & Petering, H. Biochem. Biophys. Res. Commun. 60 (1974) 1418.
- French, J.; Nicholson, D. & Rimington, C. Biochem. J. 120 (1970) 393.
- Frydman, R. & Feinstein, G. Biochim. Biophys. Acta 350 (1974) 358.
- Frydman, R. & Frydman, B. FEBS. Letters 52 (1975 a) 317.
- Frydman, B. & Frydman, R. Acc.Chem. Res. 8 (1975 b) 201.
- Fumagalli, S.; Kotler, M.; Rossetti, M. & Batlle, A. Int. J. Biochem. (1985) En prensa.
- Games, D.; Jackson, A. & Jackson, J. J. Chem. Soc. Chem. Comm. (1976) 187.
- García, R. Trabajo de Tesis (UBA) (1973).
- Gassman, M.; Pluscec, J. & Bogorad, L. Plant Physiol. 43 (1968) 1411.
- Gibson, K.; Matthew, M.; Neuberger, F. & Tait, G. Nature 192 (1961) 204.
- Goldberg, A.; Ashenbrucker, H.; Cartwright, G. & Wintrobe, M. Blood 11 (1956) 821.
- Goldin, B. & Little, H. Biochim. Biophys. Acta 171 (1969) 321.
- Grandchamp, B. & Nordmann, Y. Biochem. Biophys. Res. Comm. 74 (1977) 1089.
- Grandchamp, B.; Phung, N. & Nordmann, Y. Biochem. J. 176 (1978) 97.
- Granick, S. en: "CIBA Foundation Symposium on Porphyrins" Biosynthesis and Metabolism (1955 a) p. 143. (Ed. G. Wolsstenholme y Miller) E.C.P. Londond.
- Granick, S. Absts. 128th. Meeting Am. Chem. Soc. (1955 b) 69 C.
- Granick, S. & Mauzerall, D. Ann. N.Y. Acad. Sci. 75 (1958 a) 115.
- Granick, S. & Mauzerall, D. J. Biol. Chem. 232 (1958 b) 1119.
- Granick, S. & Sassa, S. en: "Metabolic Regulation" Vol 5 (1971) 77. (Ed. H.J. Vogel) Metabolic Pathways. Academic Press N. York.
- Granick, J.; Sassa, S.; Granick, S.; Levere, R. & Kappas, A. Biochem. Med. 8 (1973) 149.

- Hanson, J. & Dayley, H. *Biochem. J.* 222 (1984) 695.
- Hayashi, N. ; Yoda, B. & Kikuchi, G. *Arch. Biochem. Biophys.* 131 (1969) 83.
- Higuchi, M. & Bogorad, L. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 244 (1975) 401.
- Hoare, D. & Heath, H. *Nature* 181 (1958) 1592.
- Jackson, A.; Jones, D.; Philip, G.; Lash, T.; Batlle, A. & Smith, S. *Int. J. Biochem.* 12 (1980) 681.
- Jackson, A.; Nagarajad, K.; Supphayen, O. & Smith, S. *J. C.Soc. Chem. Comm.* (1977) 696.
- Jackson, A.; Sancovich, H.; Ferramola, A.; Evans, N.; Games, D.; Matlin, S.; Elder, G. & Smith, S. *Phil. Trans. R. Soc. London* 273 (1976) 191.
- Johnson, A. & Jones, O. *Biochim, Biophys. Acta* 93 (1964) 171.
- Jones, O. *Biochem. J.* 107 (1968) 113.
- Jones, M.S. & Jones, O. *Biochem. J.* 113 (1969) 507.
- Jones, M. & Jones O. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 41 (1970) 1072.
- Jordan, P. & Berry, A. *Biochem. J.* 195 (1981) 177.
- Jordan, P.; Burton, G.; Nordlov, H.; Schneider, H; Pryde, L. & Scott, J. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* (1979) 204.
- Jordan, P. & Seehra, J. *J. C. S. Chem. Comm.* (1980) 240.
- Jordan, P. & Shemin, D. *J. Biol. Chem.* 248 (1973) 1019.
- Kamitabahara, R.; Pearlstone, J.; Poulson, R. & Polglase, W. *Can. J. Microb.* 19 (1973) 1239.
- Kardish, R. & Woods, J. *J. Appl. Biochem.* 2 (1980) 159.
- Kaufman, S. en: "Phosphorus metabolism" 1 (1951) 370. (Ed. Mc. Elvery) W. Glass. Baltimore, USA.
- Kennedy, G.; Jackson, A.; Kenner, G. & Suckling, G. *FEBS Letters* 6 (1970 a) 9.
- Kennedy, G.; Jackson, A.; Kenner, G. & Suckling, G. *FEBS Letters* 7 (1970 b) 205.
- Kikuchi, G.; Kumer, A.; Talmage, D. & Shemin, D. *J. Biol. Chem.* 233 (1958) 1214.
- Kipe-Nolt, J. & Stevens. S. Jr. *Plant Physiol.* 65 (1980) 126.

- Klein, O. & Senger, H. *Plant. Physiol.* 62 (1978) 10.
- Kowalski, E.; Dancewicz, A.; Szot, Z.; Lipinski, B. & Rosiek, O. *Acta Biochim. Pol.* 6 (1959) 257.
- Krueger, R.; Melnick, I. & Klein, J. *Arch. Biochem. Biophys.* 64 (1956) 302.
- Labbe, R. & Hubbard, R. *Biochim. Biophys. Acta* 52 (1961) 130.
- Lockwood, W. & Rimington, C. *Biochem. J.* 75 (1957) 372.
- Lohr, J. & Friedmann, H. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 69 (1976) 908.
- Llambías, E. *Int. J. Biochem.* 7 (1976) 33.
- Llambías, E. & Batlle, A. *FEBS Letters* 9 (1970 a) 180.
- Llambías, E. & Batlle, A. *FEBS Letters* 6 (1970 b) 285.
- Llambías, E. & Batlle, A. *Biochim. Biophys. Acta* 220 (1970 c) 552.
- Llambías, E. & Batlle, A. *Biochim. Biophys. Acta* 227 (1971 a) 180.
- Llambías, E. & Batlle, A. *Biochem. J.* 121 (1971 b) 327.
- Llambías, E.; Locascio, G. & Batlle, A. *Anales Asoc. Quím. Argentina* 59 (1971) 271.
- Marver, H.; Collins, A.; Tschudy, D. & Recheigl, M. Jr. *J. Biol. Chem.* 241 (1966).
- Mauzerall, D. & Granick, S. *J. Biol. Chem.* 232 (1958) 1141.
- Minakami, S.; Kagawa, Y.; Sugita, Y.; Yoneyama, Y. & Yeshikawa, H. *Biochim. Biophys. Acta* 35 (1959) 569.
- Miyagi, K.; Kaneshima, M.; Kawakami, J.; Nakada, F.; Petryka, Z. & Watson, C. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76 (1979) 6172.
- Nandi, D. *Arch. Biochem. Biophys.* 188 (1978 a) 266.
- Nandi, D. *J. Biol. Chem.* 253 (1978 b) 8872.
- Nandi, D. & Shemin, D. *J. Biol. Chem.* 243 (1968) 1236.
- Neve, R.; Labbe, R.; Aldrich, R. J. *Am. Chem. Soc.* 78 (1956) 691.
- Nishimura, J. & Grinnel, F. en: "Advances in Enzymology" 36 (1972) 183 (Ed. Meister) Wiley & Son. Chicester.
- Ohashi, A. & Kikuchi, G. *Arch. Biochem. Biophys.* 153 (1972) 34.

- Ohashi, A. & Kikuchi, G. J. Biochem. (Tokyo) 85 (1979) 239.
- Paterniti, J. Jr. & Beattie, D. J. Biol. Chem. 253 (1979) 6112.
- Patton, G. & Beattie, D. J. Biol. Chem. 248 (1973) 4467.
- Porra, R. & Falk, J. Biochem. J. 90 (1964) 69.
- Porra, R. & Jones, O. Biochem. J. 87 (1963) 181.
- Porra, R. & Lascelles, J. Biochem. J. 94 (1965) 120.
- Poulson, R. J. Biol. Chem. 251 (1976) 3730.
- Poulson, R. & Polglase, W. Biochim. Biophys. Acta 329 (1973) 256.
- Poulson, R. & Polglase, W. J. Biol. Chem. 249 (1974) 6367.
- Poulson, R. & Polglase, W. J. Biol. Chem. 250 (1975) 1269.
- Rasmussen, G. & Kushner, J. J. Lab. Clin. Med. 93 (1979) 54.
- Reithmueller, G. & Tuppy, H. Biochem. Z. 340 (1964) 413.
- Rimington, C. & Tooth, J. Biochem. (Tokyo) 49 (1961) 456.
- Romeo, G. & Levin, E. Biochim. Biophys. Acta 230 (1971) 330.
- Rossetti, M. Trabajo de Tesis (1978) (UBA).
- Rossetti, M. & Batlle, A. Int. J. Biochem. 8 (1977) 268.
- Rossetti, M.; Juknat de Geralnik, A. & Batlle, A. Int. J. Biochem. 8 (1977) 781.
- Rossetti, M.; Juknat de Geralnik, A. Kotler, M; Fumagalli, S. & Batlle, A. Int. J. Biochem. 12 (1980) 761.
- Sancovich, H.; Batlle, A. & Grinstein, M. Biochem. Biophys. Acta 191 (1969) 130.
- Sancovich, H.; Ferramola, A.; Batlle, A.; Kivilevick, A. & Grinstein, M. Acta Physiol. Latinoam. 26 (1976) 376.
- San Martín de Viale, L. & Grinstein, M. Biochim. Biophys. Acta 158 (1968) 79.
- Sano, S. Acta Haematol. Japan 21 (1958) 237.
- Sano, S. Biol. Chem. 241 (1966) 5276.
- Sano, S. & Granick, S. J. Biol. Chem. 236 (1961) 1473.
- Sassa, S. & Granick, S. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 67 (1970) 517.

- Sassa, S.; Granick, S. & Kappas, A. Ann. N.Y. Acad. Sci. 244 (1975) 419.
- Sawada, H.; Takeshita, M.; Sugita, Y. & Yoneyama, Y. Biochim. Biophys. Acta 178 (1969) 145.
- Scott, A.; Burton, G.; Jordan, P.; Matsumoto, H.; Fagerness, P. & Pryde, L. J. Chem. Soc. Chem. Comm. (1980) 384.
- Seehra, J. & Jordan, P. J. Am. Chem.Soc. 102 (1980) 6841.
- Shemin, D. Phil. Trans. R. Soc. London, B 273 (1976) 109.
- Smith, A. & Francis, J. Biochem. J. 183 (1979) 455.
- Smith, A. & Francis, J. Biochem. J. 195 (1981) 241.
- Stella, A.; Parera, V.; LLambías, E. & Batlle, A. Biochem. Biophys. Acta 252 (1971) 481.
- Tait, G. Biochem. J. 128 (1972) 1159.
- Tomio, J.; Garcia, R.; San Martin de Viale, L. & Grinstein, M. Biochim. Biophys. Acta 198 (1970) 353.
- Tomio, J. & Grinstein, M. European J.Biochem. 6 (1968) 80.
- Tschudy, D.; Marver, H. & Collins, A. Biochem. Biophys. Res. Comm. 21 (1965) 480.
- Tsukamoto, J.; Yoshinaga, T. & Sano, S. Biochim. Biophys. Acta 570 (1979) 167.
- Varticovski, L.; Kushner, J. & Burnham, B. J. Biol. Chem. 255 (1980) 3742.
- Wider de Xifra, E. & Batlle, A. Enzyme 16 (1973) 128.
- Wider de Xifra, E. & batlle, A. Int. J. Biochem. 5 (1974) 129.
- Wider de Xifra, E. & Batlle, A. en: "Porphyrin in human diseases"(1976) 25. (Ed. M. Doss.) Karger, Basel.
- Wider de Xifra, E.A. & Batlle, A. Int. J. Biochem. 12 (1980) 717.
- Wider de Xifra, E.; Stella, A. & Batlle, A. Plant. Sciences Letters (1978).
- Wider de Xifra, E. & Tigier, H. FEBS. Letters 9 (1970) 30.
- Wider de Xifra, E. & Tigier, H. Enzymology 41 (1971) 217.

- Whiting, M. & Elliot, W. J. Biol. Chem. 247 (1972) 6818.
- Whiting, M. & Granick, S. J. Biol. Chem. 251 (1976) 1340.
- Williams, D.; Morgan, E.; Mc Donald, E. & Battersby, A. Biochem. J. 193 (1981) 301.
- Woods, J. Mol. Pharmacol. 10 (1974) 389.
- Woods, J. & Murthy, V. Mol. Pharmacol. 11 (1975) 70.
- Wu, W.; Shemin, D.; Richards, K. & Williams, R. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 71 (1974) 1767.
- Yoneyama, Y.; Ohyama, H.; Sugita, Y & Yoshikawa, H. Biochim. Biophys. Acta 62 (1962) 261.
- Yoneyama, Y; Tamsi, A.; Yasuda, T. & Yoshikawa, H. Biochim. Biophys. Acta 105 (1965) 100.
- Yoshikawa, H. & Yoneyama, Y. en: "Iron Metabolism" (1964) 24. (Ed. F. Gross). Springer-Verlag. Berlin.
- Yoshinaga, T. & Sano, S. J. Biol. Chem. 255 (1980) 4722.
- Zaman, Z.; Abbond, M. & Akhtar, M. J. Chem. Soc. Chem. Comm. (1972) 1263.

C A P I T U L O I V

REGULACION

IV. REGULACION

IV.1. INTRODUCCION

Los procesos metabólicos que ocurren en la célula viva están coordinados de manera tal de asegurar un perfecto equilibrio en el interior de la misma. Sólo así los sustratos son utilizados adecuadamente para la síntesis de sustancias vitales para el crecimiento de la célula.

Este control que se lleva a cabo a diferentes niveles y de varias formas, es sumamente complejo, y su coordinación depende de una extraordinaria maquinaria metabólica.

La biosíntesis de porfirinas responde también a esta regla general, sin embargo constituye un caso notable por el alto grado de eficiencia con el cual se lleva a cabo, con especial referencia en el hombre, donde en condiciones normales la cantidad de precursores, ALA, PBG, e intermediarios del camino metabólico del hemo, que se acumulan o excretan por día es muy pequeña. No solamente la conversión enzimática de PBG en porfirinas favorece la formación de los isómeros fisiológicos de la serie III al grado del 99,9%; sino que de la producción diaria de 460 μ moles de hemoglobina, sólo se excretan en precursores y porfirinas entre 20-24 μ moles, es decir, apenas un 5%. Este notable rendimiento es el resultado de la existencia de una serie de controles estrechamente ligados. Si estos controles fallan o son defectuosos, como ocurre en las porfirias, puede tener lugar la síntesis de cantidades elevadas de intermediarios de la cadena del hemo, con serias consecuencias para el organismo (Batlle y col., 1981).

La alta concentración de precursores y/o intermediarios que puede alcanzarse cuando fallan los mecanismos de regulación, demuestra la gran capacidad potencial de trabajo de las enzimas del camino del hemo cuando pueden funcionar libremente, y enfatiza la necesidad de la existencia de sistemas de control en favor de la economía y salud de la célula.

IV.2. MECANISMOS DE CONTROL

Se han postulado diferentes mecanismos que pueden controlar la biosíntesis de porfirinas en la célula, y entre ellos podemos mencionar:

- i. Control a través de cambios en la actividad enzimática.
- ii. Control genético a través de cambios en la cantidad de la enzima limitante.
- iii. Control por especialización tisular y localización intracelular.
- iv. Control por efectos de constituyentes del medio ambiente o del medio celular
- v. Control por interconexión con otros caminos metabólicos.

IV.2.1. Control a través de cambios en la actividad enzimática

Uno de los mecanismos de regulación rápido que posee la célula es a través de cambios en la actividad de las enzimas limitantes de la velocidad de un camino metabólico. En la regulación de la biosíntesis del hemo se ha establecido que la síntesis de tetrapirroles está controlada principalmente por cambios en la actividad de la enzima ALA-S. El ALA-S es así la enzima limitante, y como tal juega un papel fundamental en la regulación de esta secuencia metabólica. En la mayoría de las células, las demás enzimas se encuentran presentes en cantidades no limitantes.

En la célula hay varios mecanismos que pueden funcionar para controlar la actividad de una enzima. Uno de ellos se realiza a través de la asociación o disociación de las subunidades de una enzima oligomérica, las cuales pueden estar unidas por medio de enlaces no-covalentes. Un segundo mecanismo que implica cambios más drásticos en la estructura de una enzima, es el que ocurre con la activación de los zimógenos, por eliminación enzimática de una cadena polipeptídica. Finalmente, en un gran número de procesos enzimáticos, se ha encontrado que el producto final de una secuencia metabólica ejerce un efecto inhibitorio o estimulante sobre la primera enzima de ese camino.

Este mecanismo de control que se conoce como CONTROL POR RETROINHIBICION o CONTROL POR PRODUCTO FINAL está basado en efectos alostéricos. Los compuestos formados en los procesos metabólicos interactúan con la proteína enzimática en un sitio distinto del sitio activo, de tal modo que cambia su conformación influyendo sobre la actividad enzimática.

Este tipo de mecanismo por retro-inhibición es el que opera en la biosíntesis del hemo y la primera prueba de ello provino de los estudios de Lascelles (1964), quien demostró que cuando se hacía crecer *Rhodopseudomonas spheroides* en un medio deficiente en hierro, se acumulaban grandes cantidades de coproporfirina. El agregado de pequeñas cantidades del metal corregía el problema, postulándose que el hierro actuaba promoviendo la síntesis de hemo, que a su vez actuaba inhibiendo la actividad de la primera enzima, el ALA-S (Figura IV.1.).

IV.2.2. Control genético a través de cambios en la cantidad de enzima

Otra forma que tiene la célula de regular un camino metabólico es a través del control genético de la síntesis de la(s) enzima(s) limitante(s). Se ha demostrado que algunas enzimas están en la célula en cantidades aproximadamente constantes; otras, sólo se sintetizan cuando actúan ciertas sustancias inductoras sobre el material genético del núcleo celular, que contiene la información necesaria para su síntesis (Ames y Martín, 1964; Kornberg, 1965).

En el caso de la biosíntesis del hemo, existe, también un control genético de la síntesis de la enzima limitante, ALA-S, dependiente del DNA, que regula el nivel de la enzima en la célula. El mecanismo que se ha postulado para explicar la síntesis del ALA-S y su control se basa en la conocida hipótesis de Jacob y Monod (Figura IV.1.R).

En este esquema se tiene en cuenta el hecho experimental de que la síntesis del hemo se encuentra reprimida en la mayoría de los tejidos, por cuanto sus requerimientos son generalmente bajos y además, que el mismo hemo actúa como represor de su propia síntesis.

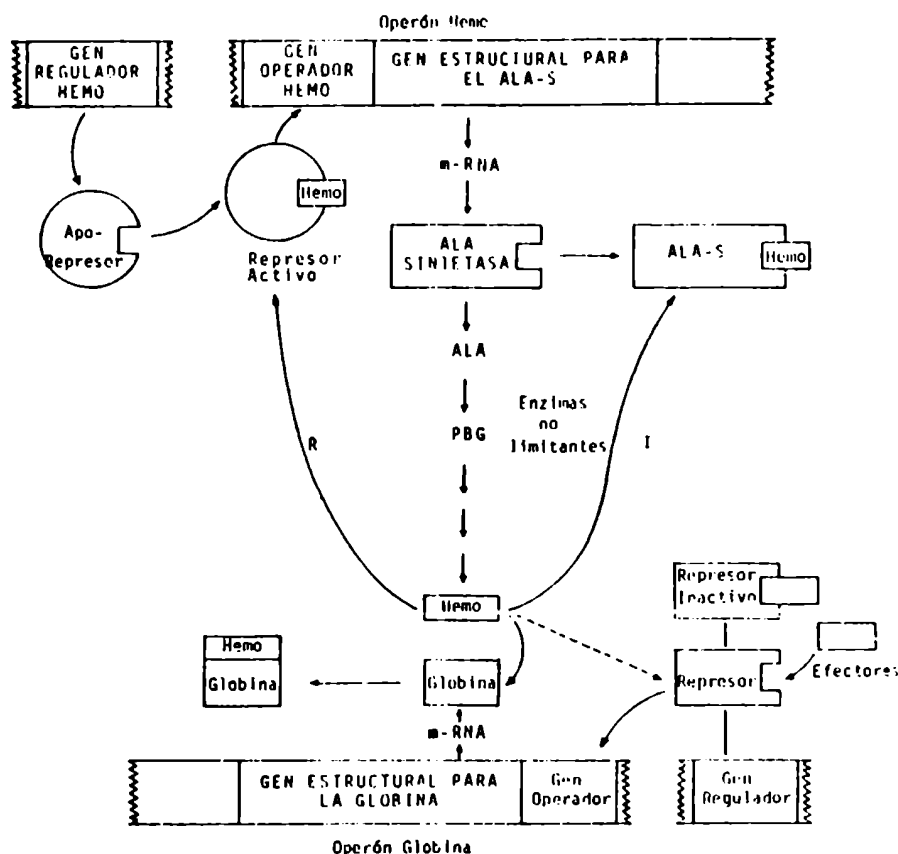


Figura IV.1.: *Mecanismo de regulación de la biosíntesis del hemo; I: por inhibición feed-back del ALA-S; R: por represión de síntesis proteica del ALA-S. Su coordinación con un hipotético esquema de control de la síntesis de hemoglobina y globina.*

El gen estructural, una porción del DNA cromosómico del operón hemo, que lleva la información para la síntesis del ALA-S, se activa por medio de un gen operador, que a su vez responde a la presencia de un represor activo, el cual actúa normalmente reprimiendo este gen operador, que detiene entonces la producción del RNA-mensajero, por el gen estructural que codifica la enzima y por ende se interrumpe su síntesis. Este mecanismo de represión de síntesis enzimática constituye un sistema de control lento.

El represor activo se forma por la unión de un aporrepresor proteico producido por el gen estructural del operón he

mo, y un co-represor, que en este caso se propone que es la molécula de hemo.

De manera que el hemo controla su propia síntesis, actuando rápidamente por un mecanismo de retro-inhibición sobre el ALA-S y más lentamente, por un mecanismo de represión, deteniendo la síntesis proteica del ALA-S. Cuando no hay exceso de hemo, no tiene lugar la conjugación del mismo con el apo-represor, el sistema represor no es activo, y por lo tanto no actúa sobre el gen operador, de manera que se inicia nuevamente la síntesis del ALA-S, que tendrá lugar a la máxima velocidad. Este mecanismo de control genético de la biosíntesis del hemo por represión ha sido demostrado en la mayoría de los tejidos y células estudiados (Batlle, 1983).

IV.2.3. Control por especialización tisular

De acuerdo a la información que se dispone de la biosíntesis de tetrapirroles en distintos tejidos, parece existir una correlación simple y directa entre los niveles de actividad de las enzimas de este camino y su capacidad para formar las hemoproteínas (Sassa y Kappas, 1981).

El hígado, en condiciones normales sintetiza aproximadamente el 15% del hemo que se produce en todo el cuerpo; mientras que la mayor parte del hemo restante lo aportan los eritroblastos de la médula ósea en forma de hemoglobina (Sassa y Kappas, 1981).

Un ejemplo de lo dicho se resume en la Tabla IV.1. que muestra la velocidad de formación de hemo expresada como la concentración de ALA necesaria para mantener los niveles normales de las hemoproteínas hemoglobina, catalasa y citocromo P_{450} en sangre e hígado de rata. Cabe recordar que el citocromo P_{450} utiliza para su síntesis el 40% de la producción total del pigmento en hígado, mientras que la catalasa sólo emplea un 10% del total de la producción hémica.

Por otro lado, el citocromo P_{450} presenta una alta velocidad de recambio y se ha comprobado que su síntesis puede incrementarse bajo ciertas condiciones. Existen una gran cantidad de drogas, productos químicos y hormonas que producen la estimulación de la síntesis de hemo en el hígado (Granick y

Urata, 1963; Granick, 1966), mientras que hay pocos productos químicos que inducen la síntesis del pigmento en células eritroides (Wada y col., 1967). Además, la hipoxia (Falk y Porra, 1964) y la eritropoyetina (Bottomley y Smuller, 1969) aumentan la actividad de ALA-S en células eritroides. Estos hechos experimentales dieron motivo a que se estudiara el control de la biosíntesis del hemo de acuerdo a la especialización tisular, con especial referencia al tejido hepático y a las células eritroides.

Tabla IV.1.: *Concentración relativa y velocidades de recambio de hemoproteínas en hígado y médula ósea de rata*

HEMOPROTEINA	TEJIDO	FUNCION	CONCENTRACION	$t_{1/2}$	ALA
			nmol/g	h	
Hemoglobina	Médula ósea	Transporte de oxígeno	4.470,0	600-720	99,0
Catalasa	Hígado	Descomposición del peróxido de hidrógeno	5,3	29	3,5
Citocromo b. c. c ₁ , a + a ₁		Transporte de electrones	16,4	140	1,3
Citocromo b ₅			12,0	55	1,6
Citocromo P ₄₅₀			22,5	(*) 8 47	14,4

$t_{1/2}$ = vida media; ALA = concentración necesaria para la síntesis de la hemoproteína; (*) bifásica.

IV.2.3.1. Hígado

La síntesis del hemo en el hígado está primariamente controlada por la actividad del ALA-S. Entre los hechos experimentales que avalan esta premisa podemos señalar la baja actividad enzimática que presenta esta proteína en el hígado normal no inducido, biosintetizando entre 30-100 nmoles de ALA por gramo de hígado de rata por hora (Hutton y Gross, 1970). Este nivel es suficiente para mantener en el estado estacionario la concentración de hemoproteínas hepáticas; sin embargo durante la detoxificación de drogas, esta cantidad no alcanza a proveer el ALA necesario para incrementar la concentración de citocromo P₄₅₀ hepático. Por ello, la respuesta del hepatocito a la acción de distintas drogas es inducir marcadamente el ALA-S, aumentando entre 50 y 100 veces la síntesis del ALA celular; lográndose niveles de velocidades del orden de 1.140 nmoles por gramo de hígado y por hora en ratas intoxicadas con

DDC y fenilbutazona (De Matteis, 1973), y a 6.000 nmoles por gramo de hígado por hora en hígado de embriones de pollo tratados con DDC y AIA (Whiting y Granick, 1976 a y b).

Las enzimas que convierten el ALA en hemo están presentes en el hígado normal en cantidades no limitantes, de modo que el incremento de ALA celular lleva a un aumento de la concentración del hemo. Sin embargo, los datos experimentales concernientes al efecto del aumento de la concentración de ALA celular en relación a la formación del hemo son bastante variables debido, en algunos casos, a la especificidad tisular o de especie, y también quizás a diferencias en las condiciones experimentales. Así, la administración intravenosa de ALA a ratas neonatas (Song y col., 1971) y ratas adultas (Padmanaban y col., 1973) no aumenta los niveles de citocromo P₄₅₀ hepático a pesar de que se observa un incremento en la concentración de bilirrubina. Sin embargo, cuando se suministra ALA a cultivo de hepatocitos de rata se produce un aumento de citocromo P₄₅₀ (Bissell y Hamaker, 1976 a y b).

Otra de las características que ubican al ALA-S como limitante en este tejido es su alta velocidad de recambio; recordemos que la vida media de la enzima en hígado de rata es de aproximadamente 70 minutos (Tschudy y col., 1965 a) y de 3 horas en ratón (Gayathri y col., 1973) al igual que en cultivo de células hepáticas de embrión de pollo (Sassa y Granick, 1970).

El hemo, en este tejido tiene una acción regulatoria sobre la actividad enzimática. La síntesis del ALA-S en hepatocitos de embrión de pollo se reprime *in vivo*, con una concentración de hemina 10^{-7} M (Granick y col., 1975); mientras que *in vitro* el ALA-S se inhibe con una concentración de hemina de 5×10^{-6} M.

Es interesante destacar el efecto *in vivo* e *in vitro* de las drogas que aumentan la actividad del ALA-S.

El AIA y el DDC son los inductores químicos más potentes del ALA-S hepática; se ha comprobado que el AIA degrada al hemo libre (De Matteis, 1970) y el DDC inhibe la actividad de la ferroquelatasa (Nisawa y Labbe, 1963; Tephly y col., 1971). La administración combinada de ambos inductores produce un incremento del nivel normal de actividad del ALA-S de 500 veces

(Whiting y Granick, 1976 a, b). A su vez, el tratamiento combinado de estos inductores con quelantes, tales como desferrioxamina (Sinclair y Granick, 1975) y CaMgEdta (Sassa y Kappas, 1977), provoca una disminución más significativa de la concentración de hemo celular, y por lo tanto, efectos más acentuados sobre la actividad del ALA-S. Por otro lado, el fenobarbital, que induce la formación del apo-citocromo P_{450} durante los procesos que llevan a la detoxificación de drogas en hígado (Figura IV.2.) combinado con DDC da lugar a un significativo aumento de la actividad del ALA-S (De Matteis, 1973).

En 1973, Patton y Beattie sugirieron que el aumento en la velocidad de síntesis del hemo en hígado de ratas tratadas con AIA, responde a un incremento en la actividad enzimática más que en la cantidad de proteína. En 1976 (b), Whiting y Granick demostraron, mediante el estudio con anticuerpos monoespecíficos para el ALA-S, un aumento proporcional entre la cantidad de proteína enzimática y la actividad del ALA-S en hígado de embriones de pollo tratados con AIA y DDC.

Es interesante destacar que el mecanismo regulatorio de la biosíntesis de hemo en hígado de feto de rata es distinto al que opera en animales adultos. Se ha observado que la actividad del ALA-S en este tejido es más elevada que en los animales adultos (Woods y Dixon, 1970, 1972), y la hemina no ejerce efecto inhibitorio sobre su actividad (Woods y Murthy, 1975). Sin embargo, no debemos olvidar que el hígado de roedores prenatos es predominantemente eritropoyético, y, como veremos más adelante, el ALA-S eritroidea no responde a los mecanismos regulatorios anteriormente citados (Sassa, 1980).

IV.2.3.2. Células eritroideas

El control de la biosíntesis del hemo en células eritroideas contempla otras variantes a las ya vistas en hígado. Los modelos experimentales más empleados para tratar de dilucidar los mecanismos de control que operan en este tejido, son los cultivos de blastodermas de embrión de pollo, de médula ósea de mamíferos y de células eritroleucémicas de rata infectadas con virus Friend.

Antes de considerar otros posibles mecanismos de con-

trol de este camino metabólico recordemos que la utilización del hemo en la síntesis de hemoglobina está muy bien coordinada con la formación de la proteína específica globina.

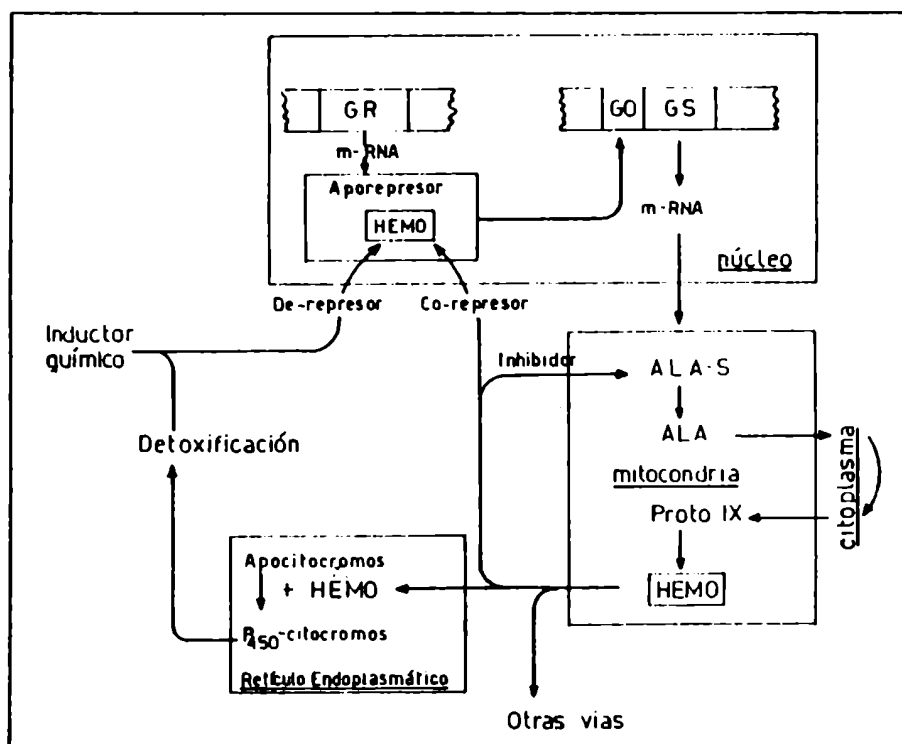


Figura IV.2.: *Mecanismos generales de la regulación de la biosíntesis del hemo y de detoxificación de drogas e inducción por de-represión.*

Las primeras pruebas del funcionamiento de este mecanismo se llevaron a cabo en blastodermas de embrión de pollo, donde se encontró que cuando las células crecían en el medio de cultivo completo, la aparición de la hemoglobina ocurría a las 48 horas de iniciada la incubación mientras que cuando se suplementaba con ALA el medio de cultivo, este tiempo se reducía a 36 horas (Levere y Granick, 1965, 1967; Levere y col., 1967; Waingwright y Waingwright, 1966, 1967). Por otro lado, estudiando el efecto de esteroides en el medio de cultivo de blastodermas de pollo se encontró que había una estimulación significativa en la actividad del ALA-S (Irving y col., 1976) y en la formación de Hemoglobina (Levere y col., 1967). Levere y Granick (1967) demostraron por medio del empleo de inhibidores de síntesis de proteínas como actinomicina D, cicloheximida o

puromicina, que el m-RNA de la globina está siempre presente en el blastoderma aunque éste recién se traduce cuando hay una cantidad suficiente de hemo en la célula. Estos mismos autores observaron que la actividad del ALA-S de blastodermas no se alteraba por la presencia de los ya conocidos inductores hepáticos, AIA y DDC (Levere y Granick, 1967).

El cultivo de células eritroleucémicas obtenidas por infección de ratones con el virus Friend o células Friend (Friend y col., 1971), es otro de los sistemas utilizados para el estudio de la regulación de la biosíntesis del hemo.

Estas células tienen algunas de las características morfológicas de los eritroblastos inmaduros; sin embargo cuando se suplementa el medio de crecimiento con dimetilsulfóxido las mismas sufren maduración eritroidea, resultando de esta forma un modelo útil para el estudio de las etapas posteriores a la eritropoyesis. La formación de hemo ocurre recién al cuarto día de la inducción con dimetilsulfóxido, lo que se observa por el color rosado que toman las células (Friend y col., 1971). En este sistema se produce una rápida inducción de las enzimas ALA-S, ALA-D y PBG-asa (Sassa, 1976; Rutherford y col., 1979) y del m-RNA para globina (Ross y col., 1972) sin que se manifieste por la presencia de hemo. El hecho que la incorporación de hierro a la protoporfirina para formar hemo ocurra recién al cuarto día postula a la ferroquelatasa un rol regulatorio en estas células (Sassa, 1976; Ross y Sautner, 1976; Granick y Sassa, 1978; Sassa y col., 1978 a).

Es interesante mencionar los estudios de Karibian y London (1965) y más tarde Ibrahim y col. (1978), quienes comprobaron que el agregado de hemina a un cultivo de reticulocitos de conejo, inhibe la incorporación de glicina marcada en el anillo pirrólico del hemo, pero no así la del ácido δ -amino levúlico. Sin embargo no debemos olvidar los resultados encontrados por Neuwirt y Ponka en 1977, y Granick y Sassa en 1978, quienes demostraron que el tratamiento con hemina disminuye también la incorporación de ^{59}Fe en hemo. Esto sugiere un segundo rol de la hemina en la biosíntesis del hemo y es el de ejercer un control sobre la entrada del hierro en los reticulocitos y en la mitocondria (Neuwirt y Ponka, 1977).

IV.2.3.3. Otros tejidos

Si bien no se dispone de la información completa de la biosíntesis de tetrapirroles en todos los tejidos, parece existir una correlación simple y directa entre los niveles de las enzimas de este camino y su correspondiente capacidad para formar hemoproteínas. De donde, entonces, la concentración de las enzimas en los distintos tejidos regula en parte, la cantidad de hemo que se necesita en cada uno.

Si bien el ALA-S cumple un rol destacado en el control de la biosíntesis del hemo en el hígado y en células eritroides, no parece desempeñar este mismo papel en la mayoría de los tejidos no hepáticos estudiados.

Tanto es así que se ha encontrado que la hemina no inhibe el ALA-S de glándula de Harder de ratones (Margolis, 1971), de corazón (Briggs y col., 1976), de glándulas adrenales (Condie y col., 1976 a, b) y de testículo de rata (Tofilon y Piper, 1980) ni aún de hígado de feto de rata (Woods y Murthy, 1975).

A su vez, los dos potentes inductores del ALA-S hepática, AIA y DDC no son capaces de modificar esta enzima en glándula de Harder de ratón (Margolis, 1971), en testículo de rata (Tofilon y Piper, 1980); en glándulas adrenales (Condie y col., 1976 a, b), en corazón (Briggs y col., 1976), en bazo (Wada y col., 1967) de ratas o en cultivo de células amnióticas humanas (Sassa y col., 1974 b).

Ciertos factores hormonales y nutricionales actúan sobre la actividad del ALA-S, aunque la respuesta también depende del tejido en estudio. Es así que mientras el ayuno aumenta la actividad de la enzima en glándula adrenal (Condie y col., 1976 a, b) la disminuye en corazón (Briggs y col., 1976; Sedman y Tephly, 1980) y no tiene efecto en cerebro (Paternitti y col., 1978). Por otro lado, la actividad del ALA-S adrenal es modificada por la hormona adrenocorticotrofina (ACTH) (Condie y col., 1976 a, b), mientras que por acción de la gonadotropina coriónica humana en testículo (Tofilon y Piper, 1980) y la eritropoyetina en bazo (Wada y col., 1967) se incrementa la actividad del ALA-S en estos tejidos.

En cultivos de fibroblastos de piel (Bonkowsky y col., 1975 b) o linfocitos estimulados mitogénicamente (Sassa y col.,

1978 b) y de pacientes con Porfiria Aguda Intermitente (PAI), la actividad del ALA-S no se modifica a pesar de la deficiencia de Deaminasa comparable a la encontrada en hígado de pacientes con PAI.

IV.2.4. Compartimentalización intracelular

Teniendo en cuenta la localización celular de las enzimas involucradas en la biosíntesis de porfirinas, llama la atención el hecho de que determinadas etapas tienen lugar dentro de la mitocondria mientras que otras suceden en el citoplasma (Figura IV.3.).

De esta manera, los metabolitos deben difundir de un espacio a otro, lo cual podría constituir de por sí, un mecanismo regulatorio, especialmente si alguno de estos sustratos se encontraran en ciertas etapas, unidos a proteínas, con lo cual su difusión podría modificarse según el estado de la célula. Se ha postulado la existencia de permeasas específicas que controlarían el pasaje de ALA y Coprogen a través de la membrana, pero esta teoría no cuenta aún con suficiente apoyo experimental (Batlle, 1982).

Es importante tener en cuenta que la concentración estacionaria de ALA dentro de la mitocondria juega un papel relevante en la regulación de la síntesis del hemo, pues ha de determinar la cantidad de ALA disponible en citoplasma para la síntesis de los tetrapirroles. A su vez, el estado estacionario de la concentración de ALA intramitocondrial está gobernado por el nivel de Succ. CoA generado en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos. Vemos, entonces que la maquinaria regulatoria de este camino es relativamente compleja y está en realidad interconectado con otros caminos metabólicos (Batlle y col., 1981).

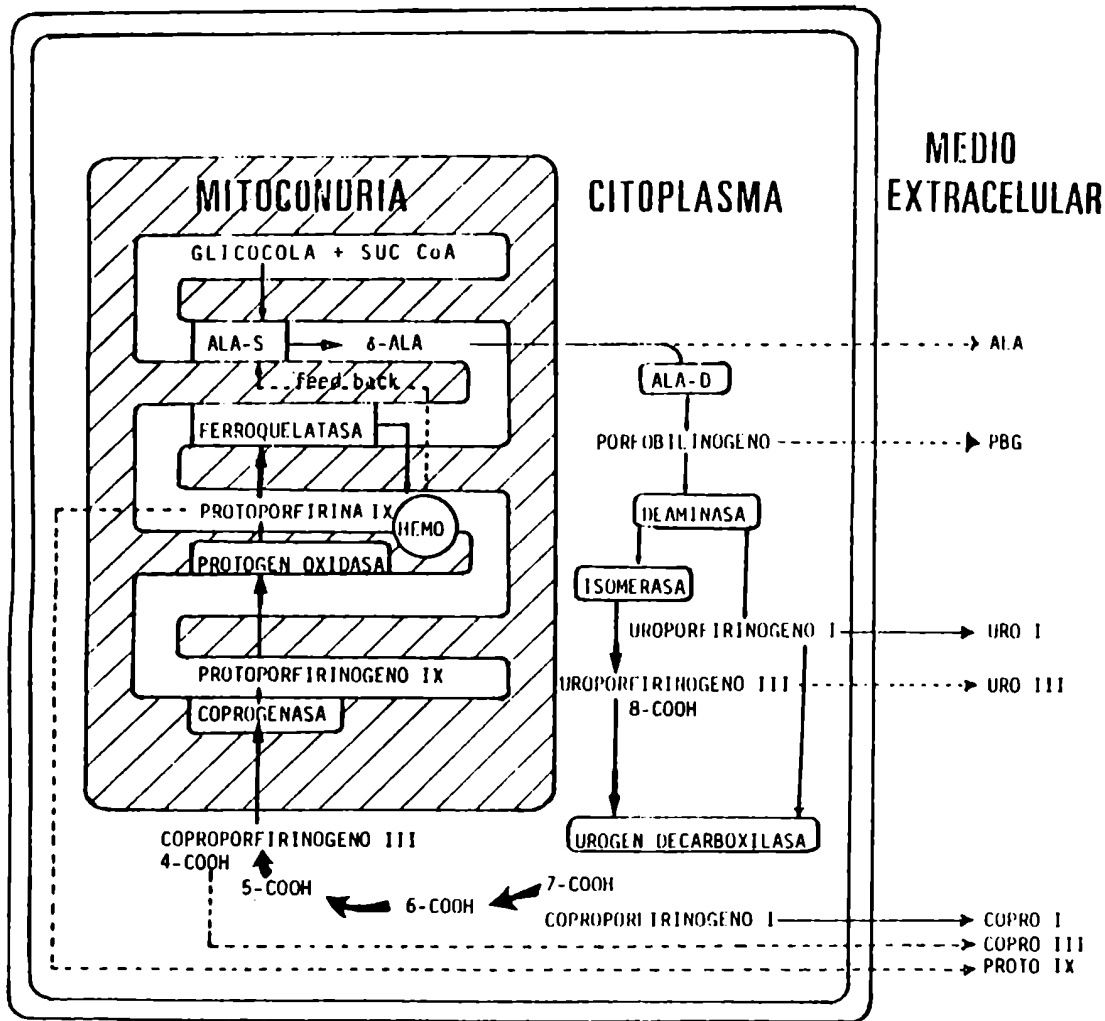


Figura IV.3.: Localización intracelular de las enzimas involucradas en el camino biosintético del hemo.

IV.2.5. Control por otros constituyentes del medio ambiente o celular

IV.2.5.1. Oxígeno

La tensión de oxígeno y el estado de óxido-reducción de la célula también influyen diferencialmente las distintas etapas de este camino metabólico, jugando así un posible rol regulatorio. Así, por ejemplo, la conversión del coproporfirinógeno III a protoporfirinógeno IX es una reacción necesariamente aeróbica mientras que la inserción de hierro en protoporfirina IX para dar hemo está favorecida por condiciones anaeróbicas (Batlle y col., 1981).

IV.2.5.2. Iluminación

En las bacterias fotosintéticas, las condiciones de iluminación desempeñan un papel importante en la biosíntesis de la regulación de clorofila; como en el caso del oxígeno, una elevada intensidad luminosa reprime la síntesis de ALA-S, de manera que se ha sugerido que en estos organismos los efectos de la luz y el oxígeno podrían responder a un mecanismo de control común, vinculado con la concentración de algún carrier en la cadena de transporte de electrones, y eventualmente con los niveles de ATP (Batlle y col., 1981).

Las primeras indicaciones experimentales relacionadas con la concentración intracelular de ATP en el control de la síntesis de porfirinas provienen de los trabajos de Gajdos y Gajdos-Török (1969), quienes demostraron que el agregado de ATP al medio de crecimiento de *Rp. spheroides* inhibía significativamente la síntesis de porfirinas. Paralelamente encontraron que en porfiria experimental inducida por agentes porfirinogénicos, los niveles de ATP estaban disminuídos, pero la porfiria se corregía si se administraba ATP, ADP o AMP. Postularon entonces que el efecto del ATP se localiza a nivel del ALA-S mitocondrial a través de la formación de un inhibidor de naturaleza proteica, inducida por el ATP. Luego, se observó que el ATP estimula significativamente la actividad del ALA-S citoplasmática en hígado de rata, postulándose que el ATP se uniría a un sitio alostérico de la enzima y podría provocar cambios

conformacionales positivos en los sitios de unión de los sustratos glicocola y succinil CoA, que llevarían a una estimulación de la actividad del ALA-S (Ohashi y Sinohara, 1978).

IV.2.6. Control por interconexión con otros caminos metabólicos

Los mecanismos de regulación del hemo se encuentran muy bien coordinados, por ejemplo, con los de formación de las proteínas específicas que constituyen las distintas hemoproteínas. Ya hemos mencionado, también la estrecha relación que existe con el ciclo de los ácidos tricarboxílicos, que regula el nivel de Succinil CoA.

Se ha demostrado que en ciertos organismos la actividad de la enzima ALA-S está controlada por las actividades relativas de dos enzimas, cistationasa y rodenasa, involucradas en el metabolismo de los compuestos sulfurados y en la formación y degradación de un trisulfuro que actúa como activador del ALA-S en determinadas condiciones (Wider de Xifra y col., 1976; Vázquez y col., 1980; Vázquez, 1984).

Vemos así otro ejemplo más de la extraordinaria eficiencia y complejidad de los finos sistemas de control de los cuales depende, y al mismo tiempo aseguran el normal funcionamiento de la intrincada maquinaria celular.

IV.2.7. Rol de las enzimas del camino biosintético del hemo

Además del ALA-S otras enzimas ocupan un lugar destacado en el control de la biosíntesis de tetrapirroles.

Las experiencias acumuladas por Padmanaban y col., en el estudio de *Neurospora crassa*, los han llevado a proponer que en este organismo, el ALA-D es la enzima limitante y regulatoria. En 1969 describieron un modelo para explicar este mecanismo de regulación (Padmanaban y Sarma, 1964; Padmanaban y col., 1967; Muthu-Krishman y col., 1968, 1969; Padmanaban y Malathi, 1972).

En 1977, Labbé-Bois y Volland observaron que en *S. cerevisiae* el ALA-D ejercía una acción regulatoria en la biosínte-

sis del hemo y en 1978, Mattoon y col., determinaron que en mu tantes de esta misma levadura, la regulación se encuentra tan to a nivel del ALA-S como del ALA-D.

En los casos de pacientes con porfiria aguda intermi-
tente se le adjudicó a la Deaminasa un rol secundario en la
regulación de la biosíntesis del hemo. En situaciones en que
el ALA-S está de-reprimida, la actividad de Deaminasa puede
ser limitante y constituir así otro punto de control (Brodie
y col., 1977).

IV.3. REFERENCIAS

- Ames, B. & Martin, R. Annu. Rev. Biochem. 33 (1964) 235.
- Batlle, A. Endocrinología Clínica y Metabolismo 4 (1982) 7.
- Batlle, A.; Magnin, P. & Wider, E. en "Porfirinas y Porfirias. Etiopatogenia, clínica y tratamiento" (1981) EUDEBA.
- Bissell, D. & Hammaker, L. Arch. Biochem. Biophys. 176 (1976 a) 91.
- Bissell, D. & Hammaker, L. Arch. Biochem. Biophys. 176 (1976 b) 103.
- Bonkowsky, H.; Tschudy, D.; Weinbach, E.; Ebert, P. & Doherty, J. J. Lab. Clin. Med. 85 (1975)
- Bottomley, S. & Smuller, G. J. Lab. Clin. Med. 74 (1969) 445.
- Briggs, D.; Condie, L.; Sedman, R. & Tephly, T. J. Biol. Chem. 251 (1976) 4996.
- Brodie, M.; Moore, M.; Thompson, G.; Campbell, B. & Goldberg, A. Biochem. Soc. Trans. (1977).
- Condie, L.; Tephly, T. & Baron, J. Ann. Clin. Res. (1976 a) 83.
- Condie, L.; Baron, J. & Tephly, T. Arch. Biochem. Biophys. 172 (1976 b) 123.
- De Matteis, F. FEBS Letters 6 (1970) 343.
- De Matteis, F. Enzyme 16 (1973) 266.
- Falk, J. & Porra, J. Biochem. J. 90 (1964) 66.
- Friend, Ch.; Scher, W.; Holland, J. & Sato, T. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 68 (1971) 378.
- Gajdos, A. & Gajdos-Török, M. en: "Porphyrines et porphyries. Biochimie et clinique" (1969) (Ed. Masson y Co.).
- Gayathri, A.; Rao, M. & Padmanaban, G. Arch. Biochem. Biophys. 155 (1973) 299.
- Granick, S. J. Biol. Chem. 241 (1966) 1359.
- Granick, S. & Sassa, S. J. Biol. Chem. 253 (1978) 5402.
- Granick, S.; Sinclair, P.; Sassa, S. & Grieninger, G. J. Biol. Chem. 250 (1975) 9215.

- Granick, S. & Urata, G. J. Biol. Chem. 238 (1963) 821.
- Hutton, J. & Gross, S. Arch. Biochem. Biophys. 141 (1970) 284.
- Ibrahim, N.; Gruenspecht, N. & Freedman, M. Biochem. Biophys. Res. Comm. 80 (1978) 722.
- Irving, R.; Mainwaring, W. & Spooner, P. Biochem. J. 154 (1976) 81.
- Karibian, D. & London, J. Biochem. Biophys. Res. Comm. 18 (1965).
- Kornberg, H. Symp. Soc. Gen. Microbiol. 15 (1965) 8.
- Labbe-Bois, R. & Volland, C. Arch. Biochem. Biophys. 179 (1977) 565.
- Lascelles, J. en: "Tetrapyrrole biosynthesis and its regulation". (1964) W.A. Benjamin Inc. New York, Amsterdam.
- Levere, R. & Granick, S. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 54 (1965) 134.
- Levere, R. & Granick, S. J. Biol. Chem. 242 (1967) 1903.
- Levere, R.; Kappas, A. & Granick, S. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 58 (1967) 985.
- Mahler, H. & Lin, C. J. Bact. 135 (1978) 54.
- Margolis, F. Arch. Biochem. Biophys. 145 (1971) 373.
- Mattoon, J.; Malamud, D.; Brunner, A.; Braz, G.; Carvajal, E.; Lancashire, W. & Banek, A. en: "Biochemistry and genetics of yeasts, pure and applied aspects" (1978) p. 317. (Ed. M. Bacila, B. Horecker y A. Stoppani) Academic Press, New York.
- Muthu-Krishnan, S.; Padmanaban, G. & Sarma, P. B.B.R.C. 31 (1968) 333.
- Muthu-Krishnan, S.; Padmanaban, G. & Sarma, P. J. Biol. Chem. 244 (1969) 4241.
- Neuwirt, J. & Ponka, P. en: "Regulation of hemoglobin synthesis" (1977) Martinus Nijhoff Medical Division. The Hague. The Netherlands.
- Nisawa, J. & Labbe, R. J.B.C. 238 (1963) 724.

- Ohashi, A. & Sinohara, H. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 80 (1978) 370.
- Padmanaban, G. & Malathi, K. *Biochem. J.* 128 (1972) 27 p.
- Padmanaban, G.; Muthu-Krishman, S. & Sarma, P. *Biochem. Biophys. Acta* 141 (1967) 187.
- Padmanaban, G.; Rao, M. & Malathi, K. *Biochem. J.* 134 (1973) 847.
- Padmanaban, G. & Sarma, P. *Arch. Biochem. Biophys.* 108 (1964) 362.
- Paterniti, J.; Simone, J. & Beattie, D. *Arch. Biochem. Biophys.* 189 (1978) 86.
- Patton, G. & Beattie, D. *J. Biol. Chem.* 248 (1973) 4467.
- Ross, J.; Ikawa, Y. & Leder, P. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 69 (1972) 3620.
- Ross, J. & Sautner, D. *Cell* 8 (1976) 513.
- Rutherford, T.; Thompson, G. & Moore, M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76 (1979) 833.
- Sardana, M. & Padmanaban, G. *Biochem. J.* 158 (1976) 169.
- Sassa, S. *J. Exp. Med.* 143 (1976) 305.
- Sassa, S. en: "Erythropoiesis and differentiation in Friend Leukemia Cells. EMBO Workshop on CNR Urbino. Italy (1980) pp. 219. Elsevier North-Holland. Biochem. Press. Amsterdam
- Sassa, S. & Granick, S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 67 (1970) 517.
- Sassa, S. & Kappas, A. *J. Biol. Chem.* 252 (1977) 2428.
- Sassa, S. & Kappas, A. en: "Advances in human genetics" 11 (1981) p.121. (Ed. Harris, Hirschhorn). Plenum Press. New York.
- Sassa, S.; Levere, R.; Solish, G. & Kappas, A. *J. Clin. Invest.* 53 (1974) 70 a.
- Sassa, S.; Granick, J.; Eisen, H. & Ostertag, W. en: "In vitro Aspects of Erythropoiesis (1978 a) pp 135. (Ed. M. Murphy) Springer-Verlag. New York.

- Sassa, S.; Zalar, G. & Kappas, A. J.Clin. Invest. 61 (1978 b) 499.
- Sedman, R. & Tephly, T. Biochem. Pharmacol. 29 (1980) 795.
- Sinclair, P. & Granick, S. Ann. N.Y. Acad. Sci. 244 (1975) 509.
- Song, C.; Moses, H.; Rosenthal, A.; Gelb, N. & Kappas, A. J. Exp. Med. 134 (1971) 1349.
- Tephly, T.; Hasegawa, E. & Baron, J. Metabolism 20 (1971) 200.
- Tofilon, P. & Piper, W. Arch. Biochem. Biophys. 201 (1980) 104.
- Tschudy, D.; Marver, H. & Collins, A. Biochem. Biophys. Res. Comm. 21 (1965) 480.
- Vázquez, E. Tesis (1984) UBA.
- Vázquez, E.; Wider de Xifra, E. & Batlle, A. Int. J. Biochem. 12 (1980) 721.
- Wada, D.; Sassa, S.; Takaku, F.; Yano, Y.; Urata, G. & Nakao, K. Biochim. Biophys. Acta 148 (1967) 585.
- Wainwright, S. & Wainwright, L. Can. J. Biochem. 44 (1966) 1543.
- Wainwright, S. & Waingwright, L. Can. J. Biochem. 45 (1967) 344.
- Wider de Xifra, E.; Sandy, J.; Davies, R. & Neuberger, A. Phil. Trans. R. Soc. Lond.B. 273 (1976) 79,
- Whiting, M. & Granick, S. J. Biol. Chem. 251 (1976 a) 1340.
- Whiting, M. & Granick, S. J. Biol. Chem. 251 (1976 b) 1347.
- Woods, J. & Dixon, R. Life Sci. 9 (Pt 11) (1970) 711.
- Woods, J. & Dixon, R. Biochem. Pharmacol. 21 (1972) 1735.
- Woods, J. & Murthy, V. Mol. Pharmacol. 11 (1975) 70.

C A P I T U L O V

PORFIRIAS HUMANAS

V. PORFIRIAS HUMANAS

V.1. CLASIFICACION DE LAS PORFIRIAS

Las porfirias, hereditarias o adquiridas, son el resultado de fallas enzimáticas específicas del camino biosintético del hemo y se caracterizan por una formación o acumulación y excreción aumentada de porfirinas y/o precursores.

De acuerdo al tejido en el cual se expresa fundamentalmente el error metabólico, sea médula ósea o hígado, se suelen clasificar en Porphirias Eritropoyéticas y Porphirias Hepáticas, aunque existen casos de participación de ambos órganos (Elder y col., 1972; Piñol Aguadé y col.; 1975) (Tabla V.1.).

Tabla V.1.: *Clasificación de las Porphirias según el órgano en el cual se expresan*

I. PORFIRIAS ERITROPOYETICAS

Porfiria Congénita Eritropoyética (PCE)
 Protoporfiria Eritropoyética (PPE)
 Coproporfiria Eritropoyética (CPE)

II. PORFIRIAS HEPATICAS

Porfiria Aguda Intermitente (PAI)
 Porfiria Variegata o Mixta (PV)
 Coproporfiria Hereditaria (CPH)
 Harderoporfiria (HP)
 Nueva Porfiria Aguda (NPA)
 Porfiria Cutánea Tarda Sintomática (PCT)

III. PORFIRIA HEPATOERITROPOYETICA

OTRAS PORFIRIAS

Asociadas con alcoholismo, enfermedades hepáticas, drogas; adquiridas por intoxicación con hexaclorobenceno, plomo, metales pesados y otros agentes tóxicos.

También el aspecto vinculado a su sintomatología clínica suele tener un carácter ordenado ; así, algunos autores las clasifican en cutáneas, agudas o mixtas (Polo y col., 1983) (Tabla V.2.).

Tabla V.2.: Clasificación de las Porfirias según su sintomatología

<u>I. PORFIRIAS CUTANEAS</u>	
	Acumulación de porfirinas.
	Fotosensibilidad.
<u>II. PORFIRIAS AGUDAS</u>	
	Acumulación de ALA y PBG.
	Síndrome neuroabdominal.
<u>III. PORFIRIAS MIXTAS</u>	
	Síntomas agudos y cutáneos.
	Acumulación de porfirinas y precursores.

En algunas porfirias hay una gran acumulación de porfirinas en la orina, heces o en sangre. Estas porfirinas se forman excesivamente en el hígado o médula ósea. En otras porfirias hay un significativo aumento de los precursores ALA y/o PBG en la orina, que tienen su origen en el hígado. Cuando están en exceso las porfirinas, la piel se hace sensible a la luz; son la Porfirias Cutáneas. Cuando son los precursores ALA y/o PBG que están aumentados, entonces la enfermedad se caracteriza por los típicos ataques de agudos dolores abdominales, cefaleas, vómitos, parálisis y manifestaciones psiquiátricas; son las Porfirias Agudas. Existe además un tipo de Porfiria Mixta, más conocida como Variegata, en la cual pueden ocurrir simultáneamente tanto los síntomas agudos como los cutáneos; en esta porfiria se producen en exceso y excretan tanto porfirinas como precursores.

En los últimos 20 años el estudio de las porfirias ha

entrado en una etapa genético-enzimológica y un mejor conocimiento del camino normal del Hemo y las enzimas involucradas ha provisto las bases para demostrar que la superproducción o acumulación de porfirinas y/o precursores, observada en cada clase de porfiria (Figura V.1.), se debe generalmente a un aumento de la actividad de la enzima limitante ALA-S, a causa de una falla en el sistema genético de control, por lo general secundaria al error primario (genético o adquirido), que puede ser un bloqueo o inhibición de alguna de las enzimas siguientes a la primera cadena, lo cual, al disminuir los niveles de Hemo, desreprime el sistema regulador, explicándose así mejor los distintos patrones de excreción bioquímicos característicos de las diferentes Porfirias. De allí la actual importancia de los estudios enzimológicos, desde el punto de vista de su diagnóstico y terapéutica.

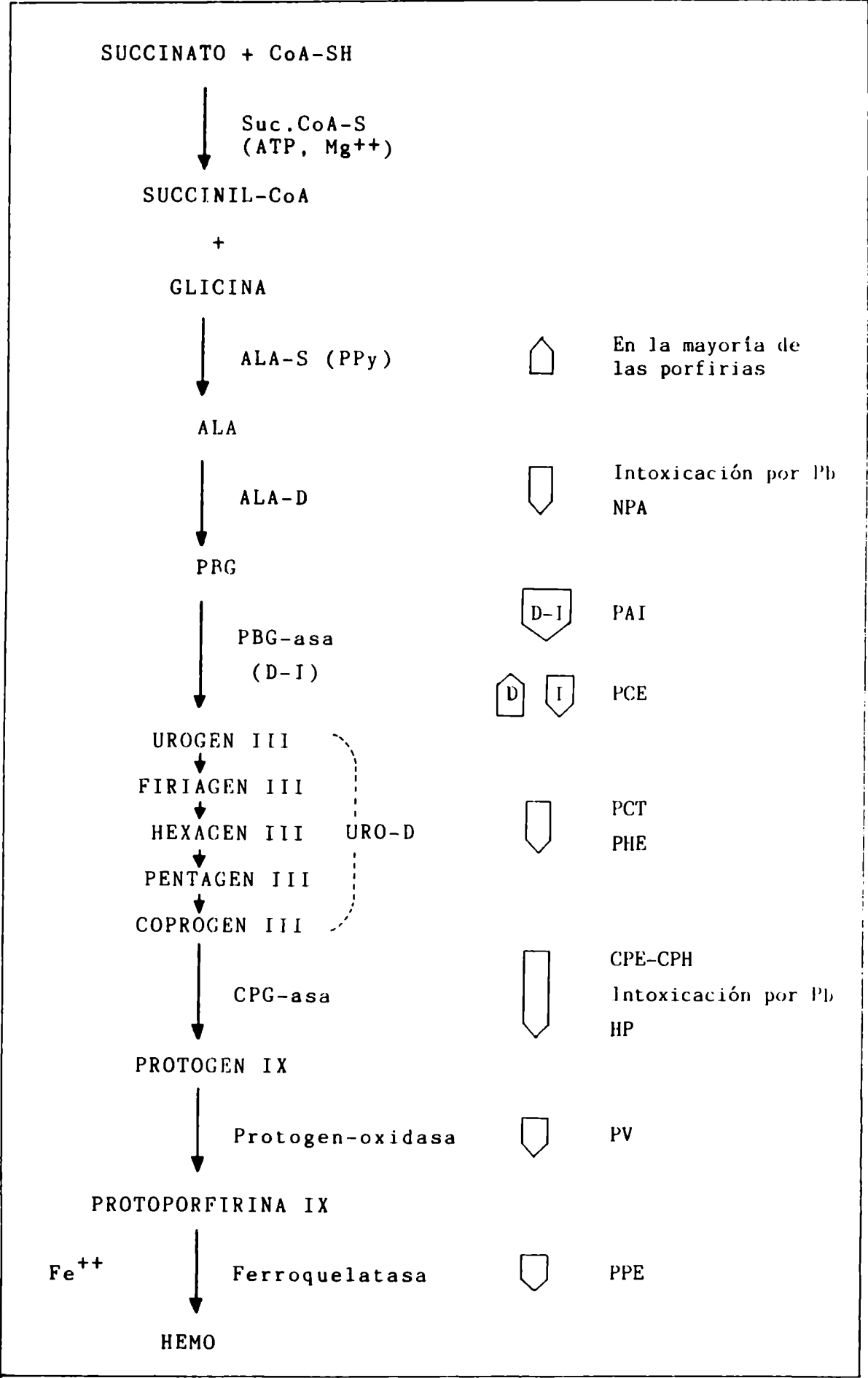


Figura V.1.: Alteraciones enzimáticas (□, ▧, ▨) en las porfirias. D-I: Deaminasa-Isomerasa.

V.1.1. Referencias

- Elder, G.; Gray, C. & Nicholson, D. J. of Clinical Pathology 25 (1972) 1013.
- Piñol Aguadé, J.; Herrero, C.; Almeida, J.; Castellanos, A.; Ferrando, J.; Asprer, J. de; Palou, A. & Giménez, A. Ann. Dermatol. Syphyligr. 102 (1975) 125.
- Polo, C.; Stella, A.; Wider, E.; Batlle, A.; Lenczner, J.; Altuna, L. & Magnin, P. Prensa Méd. Argent. 70 (1983) 433.

V.2. PORFIRIA CONGENITA ERITROPOYETICA

La Porfiria Congénita Eritropoyética (PCE), conocida también como Uroporfirja Eritropoyética o enfermedad de Günther, es una enfermedad metabólica muy poco frecuente que se caracteriza principalmente por una excreción aumentada de Uroporfirina I y Coproporfirina I en orina. Se transmite según un carácter autosómico recesivo y generalmente se manifiesta en la niñez (Marver y Schmid, 1972).

V.2.1. Historia

La PCE es, en muchos sentidos la más severa de este grupo de enfermedades. Recordemos que fue la primera de las Porfirias que se distinguió claramente; ya que el primer dato de un paciente descrito con este tipo de Porfiria data de un siglo atrás y fue presentado en forma independiente por Schultz (1874) y Baumstark (1874). Otro caso mejor documentado que el anterior, se trató del paciente del Dr. Mc Call Anderson, en 1898, en cuyo artículo se publicó la primera fotografía clínica de la Porfiria Congénita.

Durante las primeras décadas de este siglo el gran clínico alemán Günther describió en forma muy acertada la severa cicatrización y mutilación de la piel en esta enfermedad, razón por la cual, lleva su nombre (Günther, 1911, 1922).

El célebre paciente del Dr. Günther, llamado Mathias Petry, que padecía de esta enfermedad, proporcionó el material para la identificación y caracterización de porfirinas urina-rias que luego fueron fuente de estudio para el bioquímico alemán Hans Fischer. Posterior al fallecimiento de este paciente, Borst y Königsdörffer publicaron el trabajo pionero sobre la patología de las Porfirias, basado en los estudios exhaustivos de su necropsia (Borst y Königsdörffer, 1929).

V.2.2. Herencia, Distribución e Incidencia

A pesar de lo raro de la enfermedad es sorprendente cómo ha sido estudiada la genética de la Porfiria Congénita a través del grupo familiar de cada paciente (Chatterji y col., 1963;

Darocha y col., 1971; Aust, 1972; Bhutani y col., 1974; Pain y col., 1975; Ippen y Fuchs, 1980). Parece claro que la PCE se transmite como un carácter autosómico recesivo que se manifiesta desde el nacimiento.

Desde el caso Petry hasta nuestros días hay cerca de 100 casos descritos en la literatura, los cuales fueron publicados con cierta regularidad (Marver y Schmid, 1972; Pain y col., 1975; Meyer y Schmid, 1978; Deybach y col., 1981; Kushner y col., 1982).

De acuerdo a la información que se tiene, la enfermedad puede ocurrir en un amplio rango de grupos raciales: africanos (Towsend-Coles y Barnes, 1957), asiáticos (Yano, 1971; Bhutani y col., 1974) y europeos (Ippen y Fuchs, 1980).

V.2.3. Sintomatología

Los principales síntomas de la PCE son la precoz y severa fotosensibilidad cutánea, con eritema y prurito, la anemia hemolítica y esplenomegalia.

Las lesiones dermatológicas se manifiestan como vesículas de naturaleza ampollar, generalmente localizadas en la zona del cuerpo expuesta a la luz solar. Estas ampollas suelen infectarse y ulcerarse produciendo cicatrices fibrosas e incluso, mutilación tisular. La deformación severa de los tejidos incluye la pérdida de uñas o falanges terminales, lesiones de los cartílagos nasales, auriculares y parpebrales.

También son comunes en esta enfermedad la hipertrichosis, la pigmentación y despigmentación generalizada, la alopecia del cuero cabelludo y la pérdida de cejas y pestañas como consecuencia de la cicatrización. El endurecimiento de la piel del tronco y de los miembros puede llegar a ser tan severo como para aparentar esclerodermia (Magnus, 1982).

Otra característica de esta enfermedad es la eritrodontia; tanto en los dientes transitorios como en los permanentes se presentan manchas grises o marrones, que emiten una intensa fluorescencia roja característica de las porfirinas, cuando se examinan bajo luz ultravioleta. Estas manchas generalmente están localizadas en el esmalte y en la dentina de los dientes

temporarios y sólo en la dentina de los dientes definitivos. Al igual que los dientes, también los huesos son coloreados y fluorescen debido a la gran afinidad de las porfirinas por el fosfato de calcio (Sveinson y col., 1949).

En los casos severos se producen cambios oculares que pueden llevar a la pérdida completa de la visión. A menudo, los pacientes experimentan fotofobia, la cual les produce, después de algunos años, conjuntivitis crónica, queratitis y menos frecuentemente escleromalacia y cataratas. Estos últimos cambios clínicos severos suelen ocurrir en pacientes que habitan zonas soleadas tales como el Sudán (Townsend-Coles y Barnes, 1957).

La anemia, como dijimos, es de tipo hemolítico (Varadi, 1958) y la severidad de la misma varía de un paciente a otro, lo cual se pone en evidencia por el recuento de reticulocitos, llegando incluso, a ser necesaria la transfusión sanguínea en casos extremos. Los brotes de hemólisis surgen habitualmente sin causa justificada y no parecen tener relación con las estaciones, ni aún ser una consecuencia de la exposición solar (Magnus, 1982).

Para completar el cuadro clínico debemos agregar que existe un depósito significativo de porfirinas en hígado, vesícula, intestino y riñón (Magnus, 1982).

V.2.4. Características Bioquímicas

V.2.4.1. Patrón de excreción y acumulación

La Porfiria Congénita Eritropoyética se caracteriza por una gran acumulación de Uroporfirina I y Coproporfirina I en médula ósea y una elevada excreción de las mismas porfirinas en orina y heces. La orina de un PCE característico contiene gran cantidad de porfirinas, en mayor porcentaje URO y COPRO y en menor cantidad de las porfirinas hepta, hexa y penta carboxiladas, presentando todas predominio del tipo isomérico I. El nivel de precursores urinarios es normal para el PBG mientras que para el ALA puede estar levemente aumentado.

El patrón de excreción de porfirinas fecales muestra predominio de Coproporfirina, niveles normales o algo elevados

de Uroporfirina mientras que la Protoporfirina se mantiene dentro de los límites normales.

La sangre de pacientes con PCE contiene una gran cantidad de URO I y COPRO I, mientras que la concentración de protoporfirina es semejante a la observada en otras enfermedades hemolíticas (Nordmann y Deybach, 1982) (Tabla V.3.).

Tabla V.3.: Características bioquímicas de la PCE.

EDAD (años)	O R I N A				HECES			GR		
	ALA	PBG	URO	COPRO	URO	COPRO	PROTO	URO	COPRO	PROTO
	mol/l	mol/l	nmol/l	nmol/l	nmoles/g seco			nmol/l		
Recién nacido	16,5	0	80.000	7.200	280	4.960	250	1.200	4.360	9.439
3	9,15	0	35.000	6.300	-	-	-	2.000	1.510	1.135
25	23	0	16.600	4.000	39	2.330	120	500	1.125	4.520
43	20	0	38.600	8.100	100	4.620	75	600	970	2.300
Valores normales	40	9	20	380	0	60	110	Trazas	170	1.200

Niveles de precursores y porfirinas en orina, heces y GR de pacientes con PCE de distintas edades. Hay predominio de las porfirinas pertenecientes a la serie I (Nordmann y Deybach, 1982).

V.2.4.2. Defecto enzimático primario específico

Se han propuesto varias teorías para explicar el defecto enzimático primario que armoniza con el cuadro bioquímico característico de la PCE.

La primera hipótesis, que propone una actividad incrementada de la Deaminasa y del ALA-S (Heilmeyer y col., 1963; Watson y col., 1964; Miyagi y col., 1976), está basada en las experiencias realizadas por estos autores quienes observaron que la incubación de hemolizados de GR de pacientes con PCE produce cantidades normales o elevadas de URO III acompañadas de una síntesis excesiva de porfirinas de la serie I. Paralelamente a los estudios que demuestran un incremento en la actividad de la Deaminasa, se observó un leve aumento de la actividad de ALA-S en médula ósea, GR y leucocitos provenientes de estos pacientes (Masuya, 1969; Moore y col., 1978).

El segundo mecanismo, propuesto por Levin, postula una deficiencia primaria localizada a nivel de la Isomerasa. Este mecanismo encontró apoyo experimental midiendo la actividad de esta enzima en sangre periférica de ganado bovino (Levin, 1968), humana (Romeo y Levin, 1969), en cultivos de fibroblastos de piel de pacientes con PCE (Romeo y col., 1970), en sangre y diversos tejidos de la ardilla roja (Levin y Flyger, 1973). Estos hallazgos y el hecho de que la Isomerasa de pacientes con PCE es más resistente a la desnaturalización térmica que la proveniente de individuos normales indujeron a Levin (1975) a proponer que el defecto genético heredado en esta enfermedad es debido a una mutación en el gen estructural de la Isomerasa.

Es interesante destacar los estudios realizados por Nordmann y Deybach (1982) en familiares de pacientes con PCE. Se encontró que en los pacientes con PCE asintomáticos, la actividad de la Isomerasa en eritrocitos presentaba un valor intermedio entre los valores de personas normales y los pacientes homocigotas con PCE sintomática (Romeo y Levin, 1970; Deybach y col., 1981). Por otro lado, la actividad de la Deaminasa en estos sujetos fue normal mientras que en los homocigotas era el doble (Tabla V.4.).

Se encuentran publicados casos de pacientes con PCE, que presentan las características clínicas de esta enfermedad, pero los patrones de excreción de porfirinas no se ajustan a los modelos anteriormente indicados. Tal es el caso del primer paciente con PCE en Escandinavia descrito por Rimington y With (1973) y Hofstad y col. (1973), en donde el patrón de excreción anormal correspondía a un PCE pero difería en cuanto a su tipo isomérico, más del 50% de las porfirinas urinarias excretadas eran de tipo III, lo cual excluye la posibilidad de una deficiencia de Isomerasa.

Un tercer mecanismo propone que la falla genética sería la combinación de las otras dos teorías. es decir, un incremento en la actividad de la Deaminasa concomitante con una actividad disminuída de la Isomerasa y un significativo aumento en el ALA-S. Esta teoría está avalada por los resultados obtenidos en el modelo animal de PCE en un toro porfírico. Los estudios realizados por el grupo de Batlle (1979) en distintos tejidos de este toro porfírico parecen indicar que en médula ó

sea, que es el sitio de mayor expresión de la anormalidad, hay un gran incremento en la actividad de la Deaminasa acompañado de una deficiencia de Isomerasa, además de la elevada actividad del ALA-S (Tabla V.5.).

Tabla V.4.: *Niveles de actividad de Isomerasa y Deaminasa en pacientes con PCE sintomática y latente.*

TIPOS CLINICOS DE PCE	ISOMERASA			DEAMINASA		
	Nº de sujeto	Media \pm SD	Rango	Nº de sujetos	Media \pm SD	Rango
Sintomática	6	1,05 \pm 0,5	0,1-1,6	6	358 \pm 153	180-620
Latente	7	2,8 \pm 0,5	2,0-3,1	7	154 \pm 27	107-190
Control	12	6,0 \pm 1,1	4,1-7,9	50	150 \pm 40	105-195

La actividad de la Isomerasa está expresada en unidades/mg proteína y la Deaminasa en picomoles de Uroporfirina/mg prot/30 minutos (Nordmann y Deybach, 1982).

En esta última década se han descripto casos de pacientes portadores de una Porfiria Congénita Eritropoyética clínicamente típica asociados con una deficiencia en la actividad de Urodecarboxilasa (Elder y col., 1981), presentando un patrón de excreción de porfirinas urinarias similar a la PCT (Eriksen y Eriksen, 1974, 1977; Ippen y Fuchs, 1980).

El grupo de Piñol-Aguadé fue el primero en describir un caso de Porfiria en la cual el patrón de excreción de porfirinas sugería que éstas provenían no sólo de médula ósea sino también de hígado, razón por la cual la denominaron Porfiria Hepatoeritropoyética (Piñol-Aguadé y col., 1969; 1975). Otros pacientes con esta enfermedad fueron presentados por Simon y col. (1977); Czarnecki (1980), y se comprobó que la actividad de la Uroporfirinógeno Decarboxilasa se encontraba disminuida a un 7% del valor normal (Elder y col., 1981). Desde el punto de vista clínico, la Porfiria Hepatoeritropoyética (PHE), es semejante a un caso severo de PCT o de PCE (V.11.).

Tabla V.5.: Actividades de las enzimas del camino metabólico del hemo en médula ósea de toro.

	SUCC.CO-A-S	ALA-S	ALA-D	DEAMINASA	PBG-ASA
Normal	190	ND	19,6	2,5	1,24
Porfírico	498	6,18	16,9	14,7	3,54

ND = no detectable. Las actividades enzimáticas están expresadas en picomoles producto/min/mg de proteína (Batlle y col., 1979).

En 1982 se presentó el caso de un paciente de 51 años con anemia desferitropoyética, quien había sido diagnosticado como PCE desde su infancia, con un patrón de excreción de porfirinas urinario anormal para PCE. Su orina contenía 25% de Uro y 50% de Firia, predominando el tipo isomérico III. Se observó, además, una disminución del 50% en la actividad de la Decarboxilasa y una actividad de Deaminasa mayor que la de sujetos normales. Los estudios de porfirinas en sangre mostraron una concentración de Proto eritrocitaria 4 veces mayor que los valores normales. En este caso el hígado no era el responsable de la producción excesiva de porfirinas, y, además de la severa anemia desferitropoyética el paciente presentaba una marcada esplenomegalia. Estos hechos ayudan a distinguir este caso de la Porfiria Hepatoeritrocitaria en la cual se observa fluorescencia en el hígado, y, si existe anemia, ésta es muy leve (Piñol-Aguadé y col., 1969; Kushner y col., 1982).

V.2.5. Aparición de la enfermedad

La PCE, generalmente se manifiesta a temprana edad, siendo los primeros indicios, la tinción rosada de los pañales debido a la gran concentración de porfirinas en orina, y la irritabilidad del niño al ser expuesto a la luz solar (Magnus, 1982).

Se logró determinar un caso de PCE neonatal mediante

el estudio del líquido amniótico, el cual semejaba en apariencia al vino oporto y contenía una elevada concentración de Uro I (Nitowsky y col, 1978).

No obstante, existen casos de aparición tardía como el de un bantú de 55 años (Kramer y col., 1965); un australiano de 58 años que padecía de fotosensibilidad y anemia hemolítica (Pain y col., 1975); un albañil de padres anglo-griegos diagnosticado a los 54 años, en el cual la sintomatología había comenzado sólo un año antes (Weston y col., 1978); el de un francés diagnosticado a los 36 años como portador de una Porfiria cutánea sintomática y a los 54 años como PCE (Deybach y col., 1981) y el de un argelino que presentó los primeros síntomas clínicos a los 23 años, durante el servicio militar siendo diagnosticado como PCE 3 años después (Deybach y col., 1981).

V.2.6. Control y Tratamiento

No existe un tratamiento adecuado para esta enfermedad y muy poco puede hacerse por el paciente, salvo adoptar medidas profilácticas. La anemia puede corregirse por la esplenectomía y también mediante transfusiones sanguíneas (Magnus, 1982).

En cuanto a la fotosensibilidad sólo puede evitarse con medidas preventivas, educando al paciente a tener el menor contacto solar posible. El empleo de β -carotenos orales, como pantalla solar, dió resultados dispersos, dependiendo de la dosis, la cual debe ser ajustada para cada paciente hasta que no aparezcan nuevas lesiones (Mathews-Roth, 1979). Este tratamiento dió resultados parcialmente satisfactorios en 2 niños (Mathews-Roth y col., 1977) y en una joven de 18 años (Jung, 1977) mientras que Ippen y Fuchs (1980) no obtuvieron la misma respuesta con esta terapia.

En cuanto a las características de las pantallas solares empleadas para prevenir o reducir las quemaduras solares, ellas deben ser refractarias a la luz visible, resultando efectivas las que contienen óxido de cinc.

Ippen y Fuchs (1980), proponen el uso de bajas dosis de cloroquina, purinas, p-aminobenzoato y corticoesteroides.

Otra variante es la alcalinización metabólica que aumenta la excreción de porfirinas por vía urinaria (Watson y col., 1964). Watson y col. (1974), encontraron una recesión en el cuadro bioquímico administrando hematina; el aumento de las transfusiones produjo disminución en la producción de porfirinas y mejora de la fotosensibilidad cutánea (Haining y col., 1970).

Recientemente, Bhutani (citado por Magnus, 1982) ha utilizado ciclofosfamida en una paciente con PCE, obteniendo una prolongada remisión clínica y bioquímica.

V.2.7. Referencias

- Aust, D. Thesis Düsseldorf (1972).
- Batlle, A.; Wider de Xifra, E.; Stella, A.; Bustos, N. & With, T. Clinical Science 57 (1979) 63.
- Baumstark, F. Pfüg. Arch. ges. Physiol. 9 (1874) 568.
- Bhutani, L.; Sood, S.; Das, P.; Deshpande, S.; Mulay, D. & Kandhari, K. Arch. Dermatol. 110 (1974) 427.
- Borst, M. & Königsdörffer, H. Jr. en: Untersuchungen über Porphyrienit besonderer. Berücksichtigung der Porphyria Congenital" (1929) Leipzig, Hirzel.
- Czarnecki, D. Arch. Dermatol. 116 (1980) 307.
- Chatterji, A.; Ghosh, S. & Chatterjea, J.J. Ass. Phys. India 11 (1963) 937.
- Darocha, T.; Weremowicz, J. & Gregor, A. S.A. Journ. Lab. Clin. Med. 17 (1971) 231.
- Deybach, J.; de Verneuil, H.; Phung, N.; Nordmann, Y.; Puis-
sant, A. & Boffety, B. J. Lab. Clin. Med. 97 (1981) 551.
- Elder, G.; Smith, S. & Herrero, C. Lancet 2 (1981) 916.
- Eriksen, L. & Eriksen, N. Scand.J.Clin.Lab.Invest.33 (1974) 323.
- Eriksen, L. & Eriksen, N. Scand.J. Clin.Lab.Invest.37 (1977) 357.
- Günther, H. Deutsches Arch. f. Klin. Med. 105 (1911) 89.
- Günther, H. Debedentung de Hämatorporphyrine in Physiologie und Pthologischen Anat. 20 (1922) 608.
- Haining, R.; Cowger, M. & Labbe, R. Blood 36 (1970) 297.
- Heilmeyer, L.; Clotten, R. & Kerp. L. Dtsch. Med. Wochenschr. 88 (1963) 2449.
- Hofstad, F.; Seip, M. & Eriksen, L. Acta Poediatr. Scand.62 (1973) 380.
- Ippen, H. & Fuchs, T. Clinics in Haem 9 (1980) 323.
- Jung, E. Dtsch. Med. Wachenschr. 102 (1977) 279.
- Kramer, S.; Viljoen, E.; Meyer, A. & Metz, J. Br. J. Haematol. 11 (1965) 666.
- Kushner, J.; Pimstone, N.; Kjeldsberg, C.; Pryor, M. & Huntley, A. Blood 59 (1982) 725.

- Levin, E. Science 161 (1968) 907.
- Levin, E. Ann. N.Y. Acad. Sci. 244 (1975) 481.
- Levin, E. & Flyger, V. J. Clin. Invest. 52 (1973) 96.
- Magnus, I. Endocrinología Clínica y Metabolismo 4 (1982) 32.
- Marver, H. & Schmid, R. en: "The Metabolic Basis of Inherited Diseases" 3rd. ed . (1972) 1087 (Eds. J. Stanbury, J. Wyngaarden y D. Fredrickson) New York, Mc Graw Hill Book Co.
- Masuya, T. Acta Haematol. Jpn. 32 (1969) 465.
- Mathews-Roth, M. Arch. of Dermatol. 115 (1979) 641.
- Mathews-Roth, M.; Haining, R. & Kinney, T. Am. J. Dis. Child 131 (1977) 366.
- Mc Call Anderson, T. Brit. J. Dermat. 10 (1898) 1.
- Meyer, U. & Schmid, R. en: "The Metabolic Basis of Inherited Disease" (1978) 1166. (Eds. J. Stanbury, J. Wyngaarden y D. Fredrickson) New York. Mc Graw-Hill Book Co.
- Miyagi, K.; Petryka, Z.; Bossenmaier, I.; Cardinal, R. & Watson, C. Am. J. Hematol. 1 (1976) 3.
- Moore, M.; Thompson, G. ; Goldberg, A.; Ippen, H.; Seubert, A. & Seubert, S. Int. J. Biochem. 9 (1978) 933.
- Nitowsky, H.; Sassa, S.; Nakagawa, S. & Jagani, N. Pediatrics R. 12 (1978) 455.
- Nordmann, Y. & Deybach, M. Seminars in liver disease 2 (1982) 154.
- Pain, R.; Welch, F. ; Woodroffe, A.; Handley, D. & Lockwood, W. Br. Med. J. 3 (1975) 621.
- Piñol Aguadé, J.; Castells, A.; Indacochea, A. & Rodés, J. Br. J. Dermatol. 81 (1969) 270.
- Piñol Aguadé, J.; Herrero, C. & Almeida, J. Ann. Dermatol. Syphilol 102 (1975) 129.
- Rimington, C. & With, T. Danish Medical Bulletin 20 (1973) 5.
- Romeo, G.; Kaback, M. & Levin, E. Biochem. Genet. 4 (1970) 659.
- Romeo, G. & Levin, E. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 63 (1969) 856.

- Romeo, G. & Levin, E. Biochem. Genet. 4 (1970) 719.
- Schultz, J. Thesis, Greisswald (1874).
- Simon, N.; Berko, G. & Schneider, I. Br. J. Dermatol. 96 (1977) 663.
- Sveinson, S.; Rimington, C. & Barnes, H. Scand. J. Clin. Lab Invest. 1 (1949) 2.
- Townsend-Coles, W. & Barnes, H. Lancet 2 (1957) 271.
- Varadi, S. Br. J. Haematol. 4 (1958) 270.
- Watson, C.; Runge, W.; Taddeini, L.; Bossenmaier, I. & Cardinal, R. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 52 (1964) 478.
- Watson, C.; Bossenmaier, I.; Cardinal, R. & Petryka, Z. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 71 (1974) 278.
- Weston, M.; Nicholson, D.; Lim, C.; Clark, K.; Mac Donald, A.; Henderson, M. & Williams, R. Int. J. Biochem. 9 (1978) 921.
- Yano, M. Deuts. Med. J. 22 (1971) 379.

V.3. PROTOPORFIRIA ERITROPOYETICA

La Protoporfiria Eritropoyética (PPE), cuyo nombre fue sugerido por Magnus y col. (1961) es una enfermedad metabólica que se transmite en el hombre en forma autosómica dominante con un grado de penetrancia no determinado (Reed y col., 1970). Se caracteriza por un aumento en los niveles de protoporfirina libre en glóbulos rojos, heces y con frecuencia en plasma.

V.3.1. Historia

El primer caso de PPE fue descrito por el pediatra alemán Kosenow en 1953 (Kosenow y Treibs, 1953). Sin embargo, estudios posteriores provenientes de los dermatólogos Magnus y Langhof en 1961 llevaron a un mejor conocimiento de esta enfermedad (Magnus y col., 1961; Langhof y col., 1961; Magnus, 1982), habiéndose publicado más de 300 casos hasta el año 1976 (De Leo y col., 1976). Desde entonces, hasta nuestros días, es muy voluminosa la historia documentada de esta enfermedad; dando prueba de ello el grado de conocimiento que se tiene de la PPE.

V.3.2. Herencia, Distribución e Incidencia

La PPE es una porfiria mucho más conocida que la PCE, y, como ya dijimos, se transmite según un carácter autosómico dominante, pudiendo presentarse, también en forma latente (Haeger-Aronsen y Krook, 1966; Sassa y col., 1979). A diferencia de las porfirias hepáticas, en las cuales los sujetos son vulnerables a la aparición de las manifestaciones clínicas por acción de agentes químicos, los portadores de PPE no desarrollan clínicamente su enfermedad por exposición a esos productos (Lynch y Miedler, 1965).

La Protoporfiria Eritropoyética afecta, probablemente, a todas las razas pero con distinta prevalencia, dependiendo del país. Así es interesante destacar que la PPE es una de las porfirias más comunes en el Norte de Turquía, Holanda, Dinamarca e Inglaterra (Magnus, 1982).

V.3.3. Sintomatología

La PPE se caracteriza clínicamente por la fotosensibilidad cutánea a exposiciones de luz con longitudes de onda entre 400-410 mμ. Las lesiones cutáneas, semejan una urticaria o eczema solar, que generalmente desaparecen sin dejar huellas (Romeo, 1977). Las primeras manifestaciones clínicas suelen ocurrir duante el primer año de vida. A medida que pasan los años, el cuadro que domina es el de una fotosensibilidad subjetiva de la piel; los síntomas agudos son más complejos que los observados en niños.

El enfermo suele referir que después de una exposición directa a la luz solar durante un tiempo variable (1-2 minutos a 1-2 horas) desarrolla una sensación de quemazón, pinchazo y, menos frecuentemente prurito, en cualquier área de la piel expuesta. La aparición de los síntomas producidos por la exposición a la luz puede ser inmediata o bien demorar 1-2 horas, observándose que este tiempo siempre es más corto que el de que maduras solares normales. Una vez desarrollados los síntomas, estas manifestaciones cutáneas permanecen desde minutos a varias semanas, dependiendo del grado de exposición solar. En los casos en que la sensación de quemazón persiste más de unos días el enfermo puede estar expuesto a trastornos psíquicos y de comportamiento, llevando algunos una conducta excéntrica e incluso histérica. Magnus (1982) comenta, anecdóticamente, que algunos pacientes han tratado de enfriar su piel debajo de la lluvia o introduciéndose en el refrigerador. En algunos casos extremos el enfermo es aislado, sedado, e incluso internado en hospitales mentales. Se ha observado que estos episodios agudos son menos severos en adultos.

Los pacientes con PPE pueden presentar también eritema, prurito y/o edema persistente en cara y dorso de manos (Magnus, 1982).

Los síntomas pueden restringir las actividades atléticas de los niños en edad escolar y pueden llevar a sospechar en el caso del joven requerido para el servicio militar que está fingiendo una enfermedad. Los ataques agudos de fotosensibilidad dejan como evidencia ligeros engrosamientos y cicatrices superficiales principalmente en la nariz y los pómulos, escaras lineales superficiales y pliegues de la piel alrededor

de la boca.

Si bien en la mayoría de los pacientes los síntomas son exclusivamente cutáneos, ocasionalmente se encuentran complicaciones hepático-vesiculares con litiasis, colecistitis y pre-cirrosis hepática. Estos disturbios parecen deberse a una elevada concentración de Protoporfirina en hígado, ocasionados por un aumento en la captación hepática de la protoporfirina sanguínea y/o a un incremento de su síntesis en el hígado (Cripps y Scheuer, 1965).

Si bien no es común que la hepatopatía asociada a PPE produzca la muerte temprana del paciente, se han publicado 17 casos de PPE que fallecieron de cirrosis hepática causada por la acumulación de protoporfirina en el tejido (Hashimoto y col., 1970; Ibayashi y col., 1975; Pimstone y col., 1976, Miura y col., 1978 y 1980). Las edades de estos casos fatales oscilaron entre 11 y 58 años de los cuales sólo 4 eran adolescentes. Cabe destacar, que en uno de los casos se encontró gran cantidad de protoporfirina en piel, además de su acumulación en hígado (Miura y col., 1980). Recientemente se ha presentado un caso de una niña japonesa de 11 años con PPE asociada a púrpura solar (Torinuki y Miura, 1983).

V.3.4. Características Bioquímicas

V.3.4.1. Patrón de excreción y acumulación

La PPE es la única porfiria en la cual el patrón de excreción de porfirinas urinarias es normal. Se caracteriza por una elevada concentración de protoporfirina libre en eritrocitos, heces y con frecuencia en plasma. La concentración de protoporfirina en GR puede estar aumentada entre 10 y 100 veces respecto del valor normal.

Del estudio proveniente de muestras de médula ósea de PPE se encontró que la protoporfirina se acumula principalmente durante las primeras etapas de maduración de las células rojas, cuando la síntesis de hemoglobina es más activa. Se detecta la fluorescencia roja característica de las porfirinas en la mayoría de los reticulocitos (Clark y Nicholson, 1971) mientras que se observa en un número mucho menor en eritrocitos

(Magnus y col., 1961; Cripps y col., 1966; Kaplowitz y col., 1968). Cuando el eritrocito entra en el torrente circulatorio la Protoporfirina difunde a través de la membrana y se une a proteínas plasmáticas, hemopexina o albúmina, subsecuentemente es tomada por el hígado, secretada a bilis y finalmente excretada en heces (Bloomer, 1982). Jamás ocurre excreción urinaria de Protoporfirina; ni aún en casos de obstrucción biliar.

V.3.4.2. Defecto enzimático primario específico

Ya en 1961, Magnus y col., propusieron acertadamente que el defecto enzimático primario de esta enfermedad estaba situado a nivel de la Ferroquelatasa o Hemo-Sintetasa (Figura V.2.).

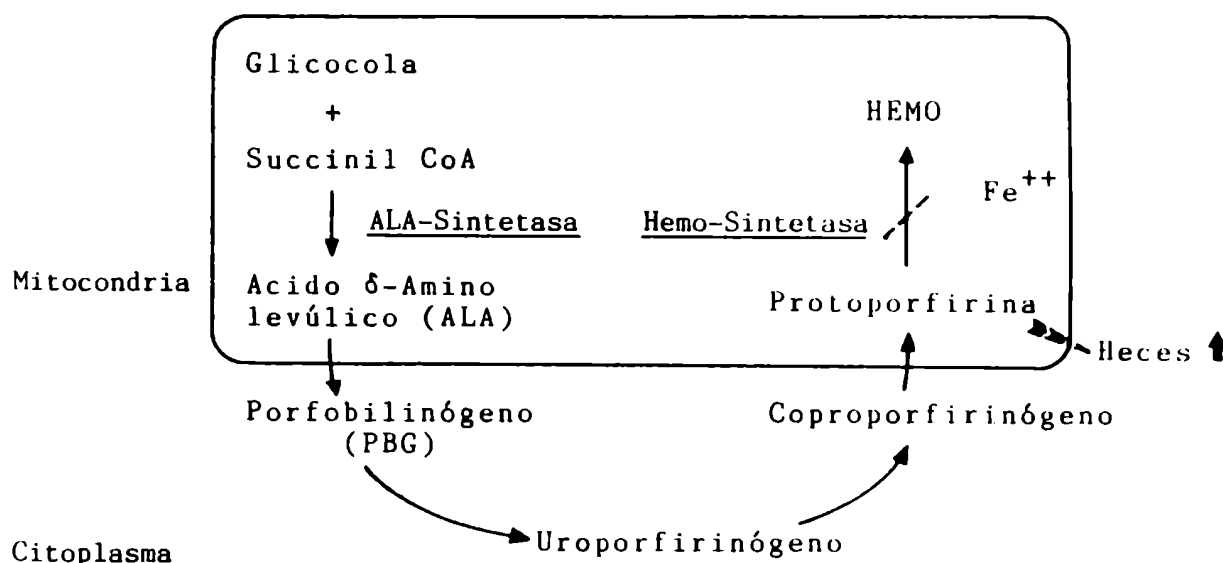


Figura V.2.: Defecto bioquímico en la Protoporfirina

Esta falla fue confirmada años más tarde en médula ósea (Bottomley, 1975; Becker y col., 1977), en hígado (Bonkowsky y col., 1975), en GR nucleados en circulación (De Goeij y col., 1975; Brodie y col., 1978; Stella y col., 1981) y en fibroblastos de piel (Bonkowsky y col., 1975; Bloomer y col., 1977; Bloomer, 1980),

Aunque la médula ósea es probablemente el sitio principal de sobreproducción de porfirinas en esta enfermedad (Piomelli y col., 1975) estudios realizados con precursores marcados radioactivamente, han señalado una contribución hepática a este desorden (Scholnik y col., 1971).

Si bien en esta enfermedad la actividad de ferroquelatasa esta disminuída, se forman cantidades de hemo suficientes para una síntesis adecuada de hemoglobina.

Se acepta que normalmente la velocidad de síntesis del hemo se encuentra regulada a nivel del ALA-S, la primer enzima de este camino metabólico que se encuentra sujeta tanto a un control rápido por inhibición como lento por represión de su síntesis, por el producto final hemo. Se ha observado así que en la mayoría de las porfirias hereditarias, las características bioquímicas típicas de cada una de ellas se deben a una acumulación de los diferentes precursores del hemo anteriores a una deficiencia enzimática parcial genética, específica para cada porfiria que por lo general está asociada a un aumento secundario en la actividad del ALA-S. Sin embargo, existen datos escasos y contradictorios acerca de los niveles de ALA-S en casos de PPE, se han observado aumentos de 2 a 3 veces del ALA-S en médula ósea e hígado (Miyagi, 1967; Cripps y Mac Eachern, 1971; Schwartz y col., 1971; Takaku y col., 1976; Pimpstone y col., 1976), en tanto que se obtuvieron valores normales en cultivos de fibroblastos (Bonkowsky y col., 1975; Bloomer y col., 1976) y en eritrocitos circulantes (Stella y col., 1981).

Esto último se puede interpretar considerando que a pesar del bloqueo parcial de la Hemo-Sintetasa, la actividad de esta enzima es todavía suficiente como para satisfacer las necesidades de síntesis de hemo en estas células y en consecuencia los niveles de hemo no disminuyen lo bastante como para reprimir el ALA-S.

Es probable, sin embargo, que ocurran aumentos temporarios en la actividad del ALA-S, que conducirían a un incremento en la concentración del pool de protoporfirina, hasta que se alcanza un nuevo estado estable, para lo cual, las velocidades de formación de ALA y protoporfirina se equilibran con sus velocidades de utilización para la síntesis de hemo y sus velocidades de excreción u otras vías de disposición. Si las velocidades de estas vías alternativas de disposición sólo están ligera

mente aumentadas o son normales, es lógico esperar que alcanzando el equilibrio se requiera un ligero o ningún aumento del ALA-S.

Estos hallazgos, sumados a la ausencia de marcada anemia en la mayoría de los pacientes con PPE, los niveles normales de hemoglobina y la ausencia de acumulación de protoporfirina en normoblastos, sugerirían que la falla genética en la PPE, llevaría a la síntesis de una Hemo-Sintetasa anormal, tal vez con una secuencia de aminoácidos modificada si bien, aparentemente, la actividad enzimática remanente sería suficiente para la síntesis de las cantidades necesarias de hemo.

Teniendo en cuenta que la Hemo-Sintetasa es una enzima que precisa ciertos lípidos específicos para su actividad, otra posibilidad es que la composición lipídica de la enzima en las mitocondrias de células de protoporfíricos sea anormal.

Un mejor entendimiento sobre las causas de la anomalía enzimática en la PPE, se lograría purificando la Hemo-Sintetasa de diversas fuentes y estudiando comparativamente el comportamiento cinético de la proteína en presencia y ausencia de ciertos lípidos, así como sus propiedades inmunológicas, de tal forma podríamos obtener evidencias experimentales acerca de cuales serían las diferencias entre la enzima funcional en tejidos normales y en tejidos de pacientes con PPE.

Sassa y col. (1979) desarrollaron una técnica de laboratorio para detectar los distintos tipos clínicos de PPE, luego de comprobar que la estimulación de la síntesis del DNA por mitógenos era similar, tanto para linfocitos provenientes de PPE como de normales, demostraron que los linfocitos de los pacientes con PPE estimulados mitogénicamente acumulaban mayor cantidad de protoporfirina que los de sujetos normales, al incubarlos con ALA. De esta forma identificaron la anomalía genética no sólo en casos de PPE clínicamente manifiesta sino, también en portadores latentes. Estos mismos investigadores, observaron que la Ferroquelatasa es inhibida por Ca-Mg-EDTA en menor proporción en linfocitos de PPE que en normales y que la suplementación con hierro facilita la utilización de Proto para la síntesis de hemo en linfocitos normales pero no en linfocitos de pacientes con PPE.

La actividad de la Ferroquelatasa medida indirectamente en cultivos de fibroblastos (Bloomer y col., 1977) o linfo-

citios estimulados mitogénicamente (Sassa y col., 1979 b) y en forma directa en GR (Stella y col., 1981) resultó ser entre un 40-50% del nivel normal, lo cual es concordante con un estado heterocigota. Sin embargo, estos resultados se contradicen cuando se determina la actividad de Ferroquelatasa medida en forma directa en cultivos de fibroblastos de piel de PPE donde resultó estar disminuida un 90% respecto de los normales (Bonkowsky y col., 1975 ; Bloomer y col., 1977).

V.3.5. Tratamiento

Se emplean principalmente medidas profilácticas una de las primeras es aconsejar al paciente que evite el sol y utilice ropas adecuadas para ello.

Como resultado de experiencias realizadas en bacterias y ratones, en las cuales los β -carotenos cumplían una función protectora del efecto fotodinámico de las porfirinas (Mathews-Roth, 1964), Mathews-Roth y col., (1970) introdujeron el tratamiento con carotenos; aplicando dosis de 25 mg diarios de carotenos a tres pacientes porfíricos con resultados satisfactorios, ya que los tres mostraron una marcada mejoría en cuanto a la tolerancia a la luz solar. Esta protección se mantuvo durante la administración de la droga, pero la fotosensibilidad retornó al cesar el tratamiento. En base a estos resultados, el mismo grupo de investigadores trató a 130 nuevos pacientes con dosis más altas llegando hasta 180 mg de β -carotenos por día (Mathews-Roth y col., 1974, 1977). Del total de los pacientes estudiados, en 111 se observó una significativa mejoría durante el tratamiento, en cuanto a su tolerancia a la luz solar, sin desarrollar síntomas de fotosensibilidad, mientras que en los 29 restantes no se obtuvo respuesta favorable. En ningún caso se encontró efecto hepato-tóxico debido a las dosis elevadas de carotenos.

Se ha descripto también como agente protector en este tipo de porfiria, el uso de cantaxantina, análogo del caroteno, en 7 pacientes con PPE con resultados satisfactorios.

El óxido de cinc y el dióxido de titanio son otras de las sustancias protectoras que se emplean para la PPE; sin embargo, no tienen mayor difusión debido a que no son cosmética-

mente aceptables (Batlle y col., 1981; Magnus, 1982; Bloomer, 1982).

Otra terapia, aunque no tan frecuente, aplicada en la PPE es la transfusión intravenosa de hematina, generalmente utilizada cuando no hay respuesta a otros tratamientos (Bloomer y col., 1980; Lamon y col., 1980; Dobozy y col., 1983). Esta terapia fue aplicada en un niño de 8 años de edad; luego del tratamiento se observó una notable reducción en la fotosensibilidad asociada a una disminución en los niveles de Proto eritrocitaria (Bechtel y col., 1981). Dobozy y col. (1983) también utilizaron el tratamiento con hematina en 5 pacientes con PPE, que no habían respondido a la administración de β -carotenos. Los resultados mostraron una reducción considerable de los niveles de Proto y una mayor tolerancia a la luz solar.

Asimismo se ha empleado colestiramina, que interrumpe la circulación enterohepática de la protoporfirina, acompañada de vitamina E en el tratamiento de la PPE, con resultados aparentemente favorables (Strathers, 1966; Lischner, 1966; Kniffer, 1970; Bloomer, 1979).

En algunos pacientes con PPE que han sufrido daño hepático, se ha observado que éste no puede revertirse por ningún tipo de terapia. En 1980, Wells y col., realizaron trasplante hepático en uno de estos casos; si bien el funcionamiento del órgano trasplantado fue satisfactorio, el paciente falleció durante el post-operatorio debido a complicaciones cardíacas.

V.3.6. Referencias

- Batlle, A.; Magnin, P. & Wider, E. en: "Porfirinas y Porfirias. Etiopatogenia, Clínica y Tratamiento" (1981) EUDEBA.
- Bechtel, M.; Bertolone, S. & Hodge, S. Arch. Dermatol. 117 (1981) 99.
- Becker, D.; Viljoen, J.; Katz, K. & Kramer, S. Br. J. Haemat. 36 (1977) 171.
- Bloomer, J. Yale J. Biol. Med. 52 (1979) 39.
- Bloomer, J. J. Clin. Invest. 65 (1980) 321.
- Bloomer, J. Seminars in Liver Disease 2 (1982) 143.
- Bloomer, J.; Brenner, D. & Mahoney, M. Lancet II (1976) 226.
- Bloomer, J.; Brenner, D. & Mahoney, M. J. Clin. Invest. 60 (1977) 1354.
- Bloomer, J.; Pierach, C. & Watson, C. Gastroenterology 79 (1980) 1100.
- Bonkowsky, H.; Bloomer, J.; Ebert, P. & Mahoney, M. J. Clin. Invest 56 (1975) 1139.
- Bottomley, S.; Tanaka, M. & Everett, M. J. Lab. Clin. Med. 86 (1975) 126.
- Brodie, M.; Moore, M.; Thompson, G.; Goldberg, A. & Holti, G. Clin. Exp. Dermatol. 2 (1978) 381.
- Clark, K. & Nicholson, D. Clin. Sci. 41 (1971) 363.
- Cripps, D.; Hawgood, R. & Magnus, I. Arch. Dermatol. 93 (1966) 129.
- Cripps, D. & Mac Eachern, N. Arch. Pathol. 91 (1971) 497.
- Cripps, D. & Scheuer, P. Arch. Path. 80 (1965) 500.
- De Goeij, A.; Christianse, K. & van Steveninck, I. Eur. J. Clin. Invest. 5 (1975) 397.
- De Leo, V.; Fitzpatrick, M.; Matthews-Roth, M. & Harber, L. Am. J. Med. 60 (1976) 8.
- Dobozy, A.; Csató, M.; Siklósi, C. & Simon, N. Brit. J. Dermatol. 109 (1983) 571.
- Haeger-Arönsen, B. & Krook, G. Acta Med. Scand. 245 (Supl.) (1966) 48.

- Hashimoto, K.; Kanie, T.; Mibukura, Y.; Okumura, H.; Sakai, Y. & Kajita, A. Rinsho-Ketsu-eki 11 (1970) 49.
- Ibayashi, H.; Motomatsu, T.; Tomizaki, T.; Sakamoto, S.; Enjoji, M. & Matsuzaka, T. Taisha 12 (1975) 1147.
- Kaplowitz, N.; Javitt, N. & Harber, L. N. Engl. J. Med. 278 (1968) 1077.
- Kniffen, J. Gastroenterology 58 (1970) 1207.
- Kosenow, W. & Treibs, A. Z. Kinderheilkunde 73 (1953) 82.
- Lamon, J.; Poh-Fitzpatrick, M. & Lamola A. Gastroenterology 79 (1980) 115.
- Langhoff, H.; Müller, H. & Rietschel, L. Arch. f. clin. u exper. Derm. 212 (1961) 506.
- Levine, J.; Taylor Johnson, W. & Tschudy, D. Arch. Dermatol. 114 (1978) 613.
- Lischner, H. Lancet 2 (1966) 1079.
- Lynch, P. & Miedler, L. Arch. Dermatol. 92 (1965) 351.
- Magnus, I. Endocrinología clínica y metabolismo 4 (1982) 32.
- Magnus, I.; Jarrett, A.; Prankerd, T. & Rimington, C. Lancet ii (1961) 448.
- Mathews-Roth, M. Nature 203 (1964) 1092.
- Mathews-Roth, M.; Pathak, M.; Fitzpatrick, T.; Harber, L. & Kass, E. N. Engl. J. Med. 282 (1970) 1231.
- Mathews-Roth, M.; Pathak, M.; Fitzpatrick, T.; Harber, L. & Kass, E. JAMA 222 (1974) 1004.
- Mathews-Roth, M.; Pathak, M.; Fitzpatrick, T.; Harber, L. & Kass, E. Arch. Dermatol. 113 (1977) 1229.
- Miura, T. & Torinuki, W. Tohoku J. exp. Med. 125 (1978) 199.
- Miura, T.; Torinuki, W. & Morihana, Y. Tohoku J. exp. Med. 130 (1980) 97.
- Miyagi, K. J. Kjusshi Hematol. Soc. 17 (1967) 397.
- Pimstone, N.; Webber, B.; Blekkenhorst, G. & Eales, L. Ann. Clin. Res. 8 Suppl. 17 (1976) 122.
- Piomelli, S.; Lamola, A. & Poh-Fitzpatrick, M. J. Clin. Invest. 56 (1975) 1519.

- Reed, W.; Wuepper, K.; Epstein, J.; Redeker, A.; Simonson, R. & Mc Kusick, J. J. Am. Med. Assoc. 214 (1970) 1060.
- Romeo, G. Hum. Genet. 39 (1977) 261.
- Sassa, S.; Zalar, G.; Poh-Fitzpatrick, M. & Kappas, A. Trans. Assoc. Am. Physicians 92 (1979) 268.
- Scholnick, P.; Marver, H. & Schmid, R. J. Clin. Invest. 50 (1971) 203.
- Schwartz, S.; Johnson, J. & Stephenson, B. J. Lab. Clin. Med. 78 (1971) 411.
- Stella, A.; Wider de Xifra, E. ; Lenczner, M.; Magnin, P. & Batlle, A. Rev. Arg. Derm. 62 (1981) 7.
- Strathers, G. Lancet 2 (1966) 780.
- Takaku, F.; Yann, Y. & Aoki, Y. Tohoku J. Exp. Med. 107 (1976) 217.
- Torinuki, W. & Miura, T. Dermatologica 167 (1983) 220.
- Wells, M.; Golitz, L. & Bender, B. Arch. Dermatol. 116 (1980) 429.

V.4. COPROPORFIRIA ERITROPOYETICA

Esta porfiria, que fue presentada y descripta por Heilmeyer y Clotten en dos oportunidades (1964, 1966), se caracteriza por trastornos de fotosensibilización, incremento de Coproporfirina III en GR hasta 200 veces el valor normal y cantidades elevadas de Coproporfirina y Protoporfirina en heces, mientras que en orina la concentración de Coproporfirina es normal.

La acumulación de porfirinas se atribuye a una deficiencia de la Coprogenasa, y la enfermedad se transmitiría según un carácter autosómico dominante.

Desde el punto de vista clínico se observan manifestaciones de fotosensibilización de tipo leve con prurito, edema y tumefacción de las zonas expuestas sin dejar cicatrices. Dicha fotosensibilización no tendría fácil explicación a través de un depósito de Coproporfirina III en piel, ya que ésta se encuentra en los GR.

En cuanto al tratamiento, se deben aplicar las medidas conducentes a evitar fotosensibilización que han sido señaladas en las variedades anteriores de porfirias cutáneas.

V.4.1. Referencias

- Heilmeyer, L. & Clotten, R. German Med. Monthly 9 (1964) 353.
- Heilmeyer, L. & Clotten, R. & Heilmeyer, L. Jr. en: "Disturbance in Heme Synthesis" (1966), C.Thomas, Springfield Ill. citado por Sassa, S. & Kappas, A. en: "Advances in Human Genetics" 11 (1981) 121 (Ed. H. Harris y K. Hirschhorn).

V.5. PORFIRIA AGUDA INTERMITENTE

Podemos definir rápida y simplemente a la Porfiria Aguda Intermitente (PAI) como un error metabólico congénito (Garrod, 1908, 1923), caracterizado bioquímicamente por una excreción urinaria aumentada de los precursores ALA y PBG y clínicamente por episodios intermitentes de trastornos neurológicos.

V.5.1. Historia

El primer caso registrado de una PAI se debe a Stokvis en 1889, quien describió a una paciente adulta que eliminaba orina de color rojo oscuro, y luego de la ingestión de una gran dosis del hipnótico Sulfonal sufrió una disfunción neurológica, falleciendo a causa de una parálisis. Es interesante señalar que fue el mismo Stokvis, quien en 1895 produjo el primer caso de porfiria experimental de tipo agudo, por administración de Sulfonal a conejos y ratas, abriendo así el camino para el estudio de las porfirias humanas mediante el desarrollo de modelos animales, si bien en esa época los conocimientos acerca de la bioquímica de las porfirinas eran todavía muy escasos como para dar una explicación correcta de los fenómenos observados.

En 1890, Ranking y Pardington describieron otros dos casos de porfiria aguda, y desde entonces hasta hoy, casi un siglo después, es tan voluminosa la historia documentada de esta enfermedad, a la cual han contribuido talentosos científicos y clínicos de las más diversas ramas del conocimiento, que sería imposible referirnos en forma completa a ella.

V.5.2. Herencia, distribución e incidencia

En 1912, Barker y Estes, fueron los primeros en observar que la PAI podía manifestarse en miembros de una misma familia, si bien un año antes ya Günther se había referido al carácter hereditario de esta enfermedad y fue Waldenström (1937) quien obtuvo evidencias concluyentes acerca de la naturaleza genética de la PAI y Gates (1946) quien sugirió que se transmitía con carácter dominante. Estudios posteriores del mismo

Waldenström (1957) y Waldenström y Haeger-Arönsen (1967) sobre cientos de pacientes con esta enfermedad y sus familiares, con firmaron el modo autosómico dominante de transmisión.

La PAI es una de las porfirias hepáticas agudas que se manifiesta con mayor incidencia en las mujeres (Goldberg, 1959; Goldberg y Rimington, 1962), sin distinción de razas y con una prevalencia dentro de la tercera década de vida para las mujeres y de la cuarta para los hombres (Goldberg y Moore, 1980). Esta llamativa preponderancia en las mujeres está sugiriendo claramente un papel importante de las hormonas en la manifestación de la enfermedad. En niños hay algunos casos descriptos (Barclay, 1974), y es poco común que ocurra un primer ataque en adultos mayores de 50 años.

No es fácil determinar la incidencia precisa de la PAI, por cuanto los enfermos sintomáticos son sólo una parte del total de la población afectada, observándose un gran número de casos latentes. Se calcula que la prevalencia en Europa estaría en el orden de 1/20.000 y las cifras más altas corresponden a Suecia del Norte con 1/1.000 (Goldberg y Rimington, 1962). En Irlanda del Norte la incidencia es de aproximadamente 1/50.000 mientras que en Australia occidental es de 3/100.000 (Saint y Curnow, 1962). En Francia la estimación es de 0,5/100.000 (Gajdos y Gajdos-Török, 1969), en Checoslovaquia 0,27/100.000 (Kansky y Bercic, 1978) y en Polonia 0,66/100.000, llegando a 4/100.000 en Varsovia (Kostrzewska y Gregor, 1982).

V.5.3. Sintomatología

La PAI se caracteriza clínicamente por un amplio espectro de manifestaciones neurológicas y psiquiátricas, sin producción de lesiones dermatológicas.

V.5.3.1. Sistema gastrointestinal

El síndrome más frecuente, que acompaña a más del 85% de los ataques, es un agudo dolor abdominal, generalmente difuso, con localización preferencial en el hemiabdomen inferior, de tipo cólico, continuo, sin contracturas, pero sensible a la palpación profunda, que no cede con analgésicos ni opiáceos.

Pueden encontrarse también , dolores en miembros y músculos generalizados y continuos.

Puede haber vómitos importantes, molestos y hasta graves. El paciente puede deshidratarse, y con frecuencia observamos un desequilibrio electrolítico. La constipación es habitual, en tanto que sólo en un 8-10% de los casos se ha observado diarrea.

V.5.3.2. Sistema cardiovascular

Un hallazgo casi invariable en cerca del 70% de los ataques de PAI es la taquicardia sinusal con ritmos cardíacos de hasta 160 latidos/minuto y la hipertensión arterial sistémica. Sin embargo, la hipertensión generalmente es transitoria. También se han encontrado casos de hipotensión y unos pocos fatales, relacionados con parálisis respiratoria (Goldberg y col., 1982).

V.5.3.3. Aparato renal

En las porfirias hereditarias, como la PAI, el defecto enzimático está presente en todos los tejidos, incluyendo el riñón, así los precursores ALA y PBG, sintetizados en los riñones se excretan por orina tras filtración glomerular y reabsorción tubular. Dado que estos órganos pueden formar ALA, y que su producción puede estar inducida, se acepta hoy que parte del exceso de precursores y porfirinas, excretadas por los riñones en la PAI, son tanto de origen hepático como renal. De estudios post-mortem de las alteraciones observadas en los riñones o de la función renal de estos pacientes se ha establecido que las mismas podían deberse a un efecto tóxico directo de las porfirinas y/o de los precursores sobre el riñón. Se ha encontrado que en presencia de ALA y PBG existe un aumento de las catecolaminas circulantes (Schley y col., 1970) debido a un defecto en su captación, lo cual produce el daño (Atuk y col., 1975; Beal y col., 1977).

V.5.3.4. Sistema nervioso

En el sistema nervioso, Perlroth y col. en 1966, describen dos manifestaciones correspondientes al daño hipotalámico. La primera es un exagerado pasaje de hormona antidiurética a la circulación como resultado de la afectación de las fibras supraópticas y de los núcleos paraventriculares, que produce oliguria sin edema, retención de agua e hiponatremia (con vómitos) y convulsiones por intoxicación con agua (Stein y col., 1972). La segunda, una falta de control de la hormona de crecimiento por el hipotálamo, con la virtual desaparición de la misma después de la sobrecarga de glucosa (Perlroth y col., 1967; Stein y Tschudy, 1970).

También se encuentran fenómenos motores con parálisis o paresias de extremidades y músculos respiratorios, laríngeos, deglutorios, en ocasiones, parálisis ascendente de laudry, algias musculares, hipotonía, hiporreflexia e impotencia funcional. La complicación más seria es la insuficiencia respiratoria.

Son frecuentes los estados de excitación, ansiedad confusional, insomnio, frigidez y fuertes dolores de cabeza.

Las anormalidades neurológicas asociadas a la PAI y también a las otras porfirias agudas, sugieren una participación de los sistemas nerviosos central, autonómico y periférico; sin embargo, los cambios patofisiológicos que se observan en la neuropatía porfírica, aún no están aclarados. Existe también discrepancia en cuanto a que la neuropatía de la PAI sea primariamente de tipo axonal o desmielinizante. La electrodiagnosís podría suministrar información útil en cuanto a esta patofisiología, sin embargo, son relativamente pocos los trabajos relacionados con datos electrodiagnosticados en la neuropatía de la Porfiria Aguda (Zimmerman y Lovelace, 1968; Ridley, 1969; Maytham y Eales, 1971; Nagler, 1971; Case records of the MGH, 1975; Mustajoki y Seppäläinen, 1975; Flugel y Druschky, 1977; Albers y col., 1978; Vacek y col., 1982; Battle y col., 1984) y en la mayoría de ellos se han efectuado estudios de conducción nerviosa y electromiogramas, mientras que en número menor se efectuaron registros electroencefalográficos.

En cuanto al sistema nervioso periférico, Erbstein en 1903, fue el primero en describir degeneración axonal y des-

mielinización en nervio femoral en una autopsia. En otros casos en los cuales no se encontró evidencia de daño axonal, los autores concluyeron que la desmielinización, posiblemente inducida por isquemia del nervio, era el primer hecho patológico en el sistema nervioso periférico (Denney-Brown y Sciarra, 1945; Garcin y Lapresle, 1950; Gibson y Goldberg, 1956; Thomas, 1971). Sin embargo, Drury en 1956, encontró cambios axonales mientras que Hierons (1957) y Mason y col. (1933) observaron como Erbslöh, una combinación de desmielinización y alteración axonal.

A principios de la década del 60 la mayoría de los autores, en base a estudios realizados en biopsias y autopsias, estaban a favor de una lesión axonal (Ten Eyck y col., 1961; Cavanagh y Mellick, 1965; Sweeney y col., 1970). Cavanagh y Mellick (1965) encontraron fibras en todos los estadios de degeneración y postularon que la lesión de los axones distales era inducida probablemente por una disminución en la concentración del fosfato de piridoxal (Cavanagh y Ridley, 1967). Sweeney y col. (1970), observaron una mayor alteración en los troncos nerviosos proximales, siendo los cambios más significativos en los nervios de las extremidades inferiores que en las superiores (Mason y col., 1933; Sweeney y col., 1970).

La mayoría de los cambios axonales se ponen en evidencia en los nervios sensoriales, a pesar de que la lesión es fundamentalmente motora (Wakayama y col., 1975; Vincent y col., 1978; Anzil y Dozie, 1978).

La observación típica en el sistema nervioso autónomo es la cromatólisis del ganglio autónomo que va acompañada por un incremento en la síntesis de proteínas, seguida del daño axonal (Bonkowsky y Schady, 1982). También puede ocurrir vacuolización, deposición de pigmentos e infiltración con fagocitos cargados de lípidos (Mason y col., 1933), desmielinización y degeneración en el núcleo y axones del nervio vago (Ten Eyck y col., 1961; Gibson y Goldberg, 1970).

En el sistema nervioso central, también se observa cromatólisis en las neuronas de la base dorsal, en la materia gris del cordón espinal y en los núcleos brainstem (Gibson y Goldberg, 1956; Cavanagh y Mellick, 1965). Hierons (1957) ha indicado que la desmielinización del tracto espinal o del cerebelo no ocurre con frecuencia; sin embargo, pueden encontrarse dos

tipos de cambios en cerebro; los debidos a isquemia focal, tales como pequeñas hemorragias, pérdida neuronal difusa y gliosis. Se observó, además, pérdida localizada de neuronas en los núcleos hipotalámicos supraópticos y paraventriculares en pacientes con PAI asociada con aumento en la secreción de hormona antidiurética (Perlroth y col., 1966) o con vacuolización de células secretoras (Stein y col., 1972). En ninguno de los casos estos cambios fueron lo suficientemente severos como para provocar la ruptura de la arquitectura cerebral, semejante a la observada en nervios periféricos.

En conclusión, los efectos neurofisiológicos y patológicos indican una afección primaria del cuerpo neuronal, dando lugar a una neuropatía axonal en los sistemas nerviosos periférico y autónomo y a una pérdida de neuronas y gliosis en el sistema nervioso central (Bonkowsky y Schady, 1982).

V.5.3.5. Funcionamiento tiroideo

Es interesante destacar que la PAI se encuentra, en algunas ocasiones, acompañada por desequilibrios en el sistema tiroideo (Marks y col., 1979).

Se ha observado que en pacientes con PAI, las concentraciones de tiroxina total (T_4) y de proteínas transportadoras de yodo y tiroxina se encuentran aumentadas mientras que el contenido de T_4 libre circulante es normal en los casos de PAI latente o en remisión, presentando los pacientes un cuadro clínico eutiroides (Hellman y col., 1963; Hollander y col., 1967). Durante la fase aguda de la enfermedad se encuentran significativamente aumentadas tanto la T_4 como la triiodotiroxina (T_3), pudiendo llevar al paciente a un estado clínico y bioquímico de hipertiroidismo (Brodie y col., 1977a). En otro caso, el estudio de la función tiroidea durante el ataque agudo reveló igualmente un aumento en el nivel de T_4 mientras que la T_3 permaneció dentro de los valores normales (Ganda y col., 1981); observándose, además un aumento en la concentración de la hormona de crecimiento.

V.5.4. Características bioquímicas

V.5.4.1. Patrón de excreción

Todas las formas agudas de las porfirias hereditarias hepáticas tienen en común el hecho de que en ellas se producen ataques agudos de síntomas abdominales y psiquiátricos frecuentemente precipitados por factores exógenos o metabólicos. Sin embargo cada una de ellas se caracteriza por un patrón de excreción típico y único de porfirinas y precursores (Figura V.1.).

En la PAI clínicamente manifiesta (en ataque o remisión) la orina fresca contiene grandes cantidades de ALA y PBG, mientras que la excreción de porfirinas preformadas en orina y heces se encuentra generalmente dentro del rango y patrón normal. De allí que los pacientes con PAI no exhiben fotosensibilización. De estudios con familias de pacientes con PAI, se ha observado que muchos portadores del defecto genético, son clínicamente asintomáticos y en tales individuos la excreción urinaria de ALA y PBG puede encontrarse dentro o cerca de los valores normales. El hecho de que la PAI puede ser clínica o aún bioquímicamente latente, si tenemos en cuenta estos parámetros, sugiere que el defecto genético tiene una expresión variable y también enfatiza la importancia de los factores farmacológicos, nutricionales y metabólicos en la precipitación de los síntomas neuropsiquiátricos y esa singular sensibilidad de los pacientes con PAI hacia pequeñas dosis de ciertas drogas, esteroides o productos químicos, así como el ayuno o la dieta, se debe a un defecto en la biosíntesis hepática del hemo.

V.5.4.2. Defecto enzimático primario específico

De gran importancia en la identificación del defecto enzimático específico para la PAI, fue la observación de Grannick (1966) de que ciertas drogas porfirinogénicas como la alilisopropilacetamida que producía una porfiria experimental en animales con características bioquímicas similares a las de la porfiria hepática aguda humana (Schmid y Schwartz, 1952) provocaba además una fuerte inducción del ALA-S hepática.

Dado que en 1965, Tschudy y col., habían observado que en hígado de pacientes con PAI, la actividad del ALA-S estaba significativamente aumentada, se pensó que la sobreproducción de ALA característica de una PAI era el resultado de un incremento en el ALA-S. Sin embargo pronto resultó evidente que la elevada excreción urinaria de ALA y PBG en la PAI sin un aumento concomitante de porfirinas no se podía explicar en base al sólo incremento del ALA-S, dado que en otras porfirias hepáticas, como la CPH o la PV, o administrando AIA u otros inductores a animales, se provocaba un aumento en la excreción de todos los intermediarios en la biosíntesis del hemo, incluyendo las porfirinas. En consecuencia, teniendo en cuenta el rol del hemo, en la regulación de este camino y en particular del ALA-S, se pensó que debía existir algún bloqueo parcial a nivel de la conversión del PBG en uroporfirinógeno por acción de la Porfobilinogenasa (PBG-asa), que es un complejo de dos enzimas, la Deaminasa y la Isomerasa (Batlle y Rossetti, 1977). De manera que el defecto enzimático primario en la PAI se podría localizar tanto a nivel de la PBG-asa como de la Deaminasa; como consecuencia, disminuiría la velocidad de síntesis del hemo y por de-represión tendría lugar un incremento secundario de la actividad del ALA-S (Figura V.1.). Finalmente, en 1970, Strand y col., demostraron que en pacientes con PAI, la Deaminasa hepática estaba reducida un 50% con respecto a los valores para individuos normales. Además, si este defecto enzimático estaba determinado genéticamente, era de esperar que se pudiera detectar en todos los tejidos en los cuales la enzima es activa normalmente y efectivamente estudios posteriores y el desarrollo de métodos simples permitieron establecer que la actividad de esta enzima también se encontraba reducida en eritrocitos, cultivos de fibroblastos y otros tejidos (Batlle y Rossetti, 1977).

Es importante enfatizar que, actualmente, la determinación de la Deaminasa o del complejo PBG-asa en sangre, constituye un elemento fundamental para el diagnóstico de esta porfiria, en casos clínicamente manifiestos y en portadores asintomáticos de la anormalidad genética, incluyendo niños y aún en fetos.

V.5.5. Tipos clínicos de PAI

Teniendo en cuenta las relaciones probables entre los signos clínicos y los bioquímicos, en la Tabla V.6. se identifican los posibles tipos clínicos de PAI.

Tabla V.6.: Tipos clínicos de PAI

SIGNOS CLINICO-BIOQUIMICOS	SINTOMATICA	LATENTE		
		ADULTOS		NIÑOS
		Clínico	Bioquímico	
Síndrome neurológico	+	-	-	-
Orina ALA y PBG	+	+	-	normal
Sangre PBG-asa	+	+	+	+
Deaminasa	+	+	+	+
Biosíntesis de porfirinas (*)	+	+	+	+

(*) *Biosíntesis de porfirinas a partir de PBG (Punera y col., 1980)*

En el tipo sintomático está presente el síndrome clínico neurológico acompañado de una elevada excreción urinaria de ALA y PBG. Pueden existir casos latentes en adultos clínicamente, es decir con ausencia de sintomatología pero valores de ALA y PBG urinarios aumentados o bioquímicamente sin signos clínicos y con ALA y PBG normales, un cuadro igual al observado en portadores menores de 12 años. Sin embargo en todos los casos, sintomáticos y latentes, la deficiencia enzimática primaria se encuentra claramente expresada en eritrocitos, donde observamos niveles reducidos de PBG-asa, o Deaminasa o biosíntesis de porfirinas a partir de PBG, tres formas equivalentes de medir la velocidad de conversión del PBG en porfirinógenos.

V.5.6. Patogenia de las porfirias agudas

El origen de las manifestaciones neurológicas en las porfirias agudas es motivo de intenso estudio. Con el propósito de explicar estas alteraciones se han propuesto distintas hipótesis.

Una de ellas postula que las manifestaciones neurológicas en las porfirias agudas son debidas a la deficiencia de cofactores o sustratos esenciales del camino biosintético del hemo, tales como vitamina B₆, Zn o glicina (Bonkowsky y Schady, 1982):

El fosfato de piridoxal, como ya se ha señalado en el Capítulo III, es un cofactor necesario para el ALA-S. Se ha propuesto que un aumento en la actividad del ALA-S produce un incremento en la demanda de vitamina B₆, disminuyendo así, el aporte necesario para los nervios y/o músculos, dando lugar a las manifestaciones neurológicas de las porfirias agudas (Price y col., 1959; Cavanagh y Ridley, 1967). Si bien en pacientes con PAI se encontraron concentraciones de fosfato de piridoxal plasmático significativamente menores que en los controles (Hamfelt y Wetterberg, 1968, 1969), esta hipótesis es poco aceptable. En primer lugar, la naturaleza de la neuropatía por deficiencia de vitamina B₆ es distinta a la observada en las porfirias agudas (Sauberlich y Canham, 1980). Además, pacientes no porfíricos con el mismo grado de deficiencia de vitamina B₆ que el observado en pacientes con PAI no presentan signos de neuropatía (Bonkowsky y Schady, 1982). Tampoco se ha encontrado una correlación entre los niveles de fosfato de piridoxal plasmático y la severidad de la neuropatía en pacientes con PAI. Finalmente, la administración de piridoxina como terapia en pacientes con PAI con bajos niveles de fosfato de piridoxal, no produjo mejoría (Hamfelt y Wetterberg, 1968); restando así apoyo a esta hipótesis.

Las porfirinas tienen la propiedad de quelarse con Zn fácilmente; esto podría explicar la elevada excreción de Zn en la mayoría de los pacientes porfíricos. Dado que el Zn es un cofactor de la lactato deshidrogenasa (White y col., 1978), se propuso que los dolores musculares observados durante los ataques agudos eran debidos a la acumulación de lactato como resultado de la deficiencia de Zn (Peters, 1960; Peters y col., 1974).

Sin embargo, esta propuesta, al igual que la anterior, es poco aceptable. En principio, las manifestaciones clínicas en pacientes con deficiencia de Zn son marcadamente distintas a las de la porfiria aguda (Li y Vallee, 1980). A su vez, la aplicación del tratamiento con Zn en casos de porfiria aguda tampoco dio resultados satisfactorios. Por otro lado, es interesante destacar que tanto en la PCT como en la PPE, donde la excreción de Zn es elevada y excede a la de la PAI, no se observen las manifestaciones neurológicas características de las porfirias agudas.

Como vimos en el Capítulo III, la glicina es sustrato del ALA-S. En las porfirias agudas, la actividad del ALA-S está aumentada y la utilización de glicina celular para la síntesis de porfirinas se incrementa, disminuyendo, así, el aporte de glicina para otras reacciones esenciales, tales como la síntesis de acetilcolina (DeMatteis y Rimington, 1962). Piper y col., en 1973, observaron que la administración de sustratos de la glicina aciltransferasa, como el ácido p-aminobenzoico (PABA), que se combina con la glicina con gran avidez, disminuye la concentración de glicina precursora de ALA hepático, en animales con porfiria aguda.

En base a esos resultados se propuso que los sustratos de la enzima glicina aciltransferasa podrían emplearse en el tratamiento de las porfirias agudas (Piper y col., 1973). Sin embargo, no se han observado variaciones significativas en las concentraciones de glicina y acetilcolina, en las porfirias agudas (Bonkowsky y Schady, 1982).

Otra de las hipótesis para explicar las manifestaciones neurológicas de las porfirias agudas postula que serían provocadas por disturbios metabólicos en otros caminos metabólicos distintos al del hemo. Esta proposición ha sido el resultado de estudios realizados en modelos experimentales de porfiria aguda (Capítulo VII). Ciertas sustancias porfirinogénicas disminuyen la concentración hepática de ATP (DeMatteis y Rimington, 1962; Gajdos y Gajdos-Török, 1969) e influyen en la oxidación del NADH celular (Gajdos y Gajdos-Török, 1969). Se ha observado que las células hepáticas de pacientes con PAI presentan una oxidación mitocondrial de NADH menor que los controles (Bonkowsky y Schady, 1982). Las células nerviosas y musculares dependen de los niveles de ATP celular para mantener un funcionamiento

to normal y la oxidación mitocondrial del NADH es una importante fuente de producción del compuesto energético (White y col., 1978). En consecuencia, un desequilibrio en los niveles de ATP en las células nerviosas y musculares intensificaría las manifestaciones neurológicas. Sin embargo, no se han encontrado evidencias que demuestren que las sustancias porfirinogénicas inhiban la oxidación del NADH o afecten la producción de ATP en músculo o en nervio.

Una tercera hipótesis sugiere que las manifestaciones neurológicas son provocadas por productos formados a partir de los precursores ALA o PBG. Los productos derivados del PBG son los que recibieron mayor atención. Irvine y col. (1961, 1969) aislaron y caracterizaron un compuesto pirrólico en orina de pacientes con porfiria aguda y con desórdenes psiquiátricos, tales como la esquizofrenia. En principio se creyó que este compuesto era un kriptopirrol (2-4-dimetil-3-etilpirrol) (Figura V.3.), el cual es neurotóxico y desarrolla color con el reactivo de Ehrlich. Estudios posteriores indicaron que el producto natural es la hidroxihemopirrolin-2-ona, que durante el proceso de extracción conduce a la formación del kriptopirrol y pirroles relacionados (Jacobsen y col., 1975; Gendler y col., 1978).

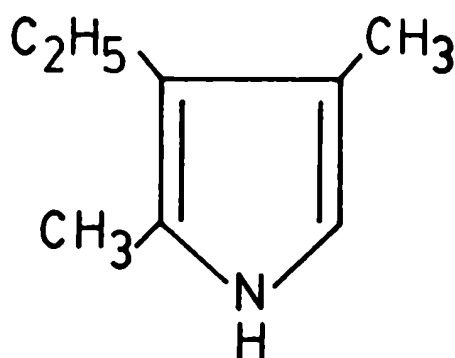


Figura V.3.: *Estructura del kriptopirrol.*

Un estudio clínico relativamente reciente demostró que no existe relación entre los niveles de hidroxihemopirrolin-2-ona y las manifestaciones de las porfirias agudas o la esquizofrenia (Gorehein, 1980).

También se propuso a la porfobilina como sustancia neurotóxica. Esta es un derivado del PBG, de color marrón oscuro, que suele encontrarse en orinas de sujetos con porfiria aguda, generalmente, luego de exponer la orina a la luz o al aire. Feldman y col. (1971) observaron que bajas concentraciones de porfobilina inhibían presinápticamente la función neuromuscular, en preparados del nervio frénico del hemidiafragma de ratas. Sin embargo, la administración a ratas de 160 μ moles de porfobilina/kg, fue bien tolerada y no tuvo efecto sobre el pulso, la presión sanguínea o el comportamiento de los animales (Pierach y col., 1977).

La porfobilina no se ha detectado en plasma u otros tejidos de pacientes porfíricos; y en casos de porfiria aguda, por deficiencia de ALA-D, tampoco se observó en sus excretas a pesar de que estos pacientes exhiben manifestaciones neurológicas características de las porfirias agudas (Doss y col., 1979). De acuerdo con esto, aún está en duda el hecho de que la porfobilina tenga algún rol en el origen de las manifestaciones neurológicas.

Otra de las hipótesis planteadas sostiene que los efectos neurotóxicos de los precursores ALA y/o PBG son los responsables de las manifestaciones neurológicas en las porfirias agudas.

La toxicidad del ALA ha recibido mayor atención dado que se observan las típicas manifestaciones neurológicas de las porfirias agudas en pacientes con deficiencia del ALA-D, en los cuales se produce un exceso de ALA y no de PBG (Doss y col., 1979), así como en pacientes con tirosinemia hereditaria o con intoxicación por plomo.

La mayoría de los estudios con ALA centran su atención en el rol de este precursor sobre la admisión o liberación del aminoácido neurotransmisor a través de los sinaptosomas (Kramer y col., 1965).

Mientras algunos estudios realizados en ratas indican que existen límites para la entrada de ALA en el cerebro

(Shanley y col., 1975), Cutler y col. (1980) estudiando el efecto directo del ALA sobre el músculo de conejo, observaron que una concentración de ALA de 0,2 a 0,8 mM disminuye las contracciones espontáneas y el tono muscular.

Si bien la cadena de efectos sobre la cual se basan estas observaciones es muy complicada, podemos resumir algunos enfoques parciales del tema aún en estudio. Feldman y col. (1968) y Bornstein y col. (1979) encontraron que el ALA provoca una disminución en la liberación de acetilcolina en preparaciones de nervio frénico del hemidiafragma de ratas. Sin embargo, las concentraciones de ALA necesarias para observar estos efectos fueron de 2 ó 3 órdenes de magnitud mayores que las observadas en sueros de pacientes con manifestaciones agudas (10^{-5} - 10^{-6} M) (Sweeney y col., 1970; Bonkowsky y col., 1971; Miyagi y col., 1971; Percy y Shanley, 1977). Tanto en cerebro humano como de conejos se ha observado inhibición de la actividad de ATPasa dependiente de Na^+ , K^+ y Mg^{++} (Kramer y col., 1971; Russell y col., 1983) en presencia de ALA a concentraciones de 10^{-4} a 10^{-3} M.

El ácido γ -aminobutírico (GABA), conocido inhibidor de la neurotransmisión, ampliamente distribuido en el sistema nervioso central, tiene una gran similitud estructural con el ALA (Figura V.4.). Sobre esta base, se ha propuesto que la mayoría de las manifestaciones de las porfirias agudas se deben a que el ALA mimifica los efectos neurofisiológicos del GABA (Nicoll, 1976; Müller y Snyder, 1977; Diehter y col., 1977; Brennan y Cantrill, 1979; Brennan y col., 1980). Se ha demostrado que el ALA (a concentración 5×10^{-5} M), compite selectivamente con el GABA por la unión a los receptores del GABA en los sinaptosomas de cerebro de rata (Müller y Snyder, 1977; Brennan y col., 1980). Brennan y Cantrill (1979), observaron que el ALA (concentración 10^{-4} - 10^{-6} M) inhibe la liberación de GABA de los sinaptosomas precargados. Los autores proponen que este último efecto se debe a la acción del ALA sobre los receptores terminales presinápticos GABAérgicos, cuya estimulación bloquea la liberación de GABA (control por feedback negativo) (Bonkowsky y Schady, 1982).

En cuanto a los efectos del PBG, se puede decir que este precursor también afecta la sinapsis. Bajas concentraciones de PBG (2-4 μM) producen inhibición de la transmisión si-

náptica en preparados neuromusculares de rata y rana (Feldman y col., 1971; Loots y col., 1975; Nicoll, 1976).

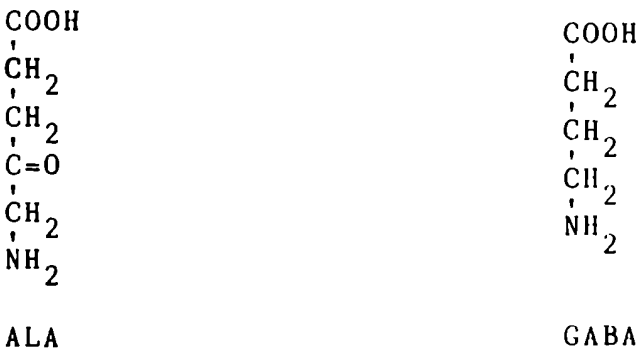


Figura V.4.: Estructuras del ALA y GABA

Aún cuando los resultados obtenidos *in vitro* acerca de los efectos sinápticos del ALA y PBG ofrecen ciertas posibilidades para explicar las observaciones *in vivo*, las experiencias *in vivo* sobre los efectos farmacológicos de los precursores de porfirinas no han proporcionado todavía resultados definitivos. En algunos casos estos precursores se muestran inertes y en otros producen cambios neurológicos (Loots y col., 1975; Bonkowsky y Schady, 1982; Riopelle y Kennedy, 1982).

Otra de las hipótesis postula la deficiencia de hemo en tejidos neuronales, como causante de las manifestaciones neurológicas. Fueron de interés las observaciones hechas por Song y col.(1974) y Anderson y col. (1976), las cuales indicaron que pacientes porfíricos presentaban bajas velocidades de metabolización de drogas que requerían para su oxidación ciertas hemoproteínas como el citocromo P₄₅₀ y el citocromo b₅. La disminución en la velocidad de metabolización de las drogas está relacionada con los niveles de dichas hemoproteínas, y en última instancia con la síntesis de hemo. Bloomer y col. (1971) han encontrado en algunos pacientes con PAI, una disminución en la velocidad de síntesis de hemo eritroideo, a pesar de que los hemogramas de rutina fueron normales. El rol que desempeña el hemo en el cerebro es indiscutiblemente de gran importancia; sin embargo, debido a la insuficiencia de datos experimentales, esta hipótesis aún carece de apoyo, aunque podemos citar estudios aislados que de alguna manera están relacionados con este

tema. Todas las enzimas cerebrales del camino biosintético del hemo son funcionales, siendo peculiar la respuesta del ALA-S a la acción de drogas porfirinogénicas. Se ha observado que el fenobarbital y otros sedantes hipnóticos, capaces de atravesar el cerebro, no inducen el ALA-S en ratas (Barnes y col., 1971; Percy y Shanley, 1979). No se detecta hemo dentro del Sistema Nervioso Central cuando éste es administrado intravenosamente a ratas normales (DeMatteis y col., 1981) y a pacientes porfíricos (Bonkowsky y Schady, 1982).

Las porfirinas y el hemo podrían ejercer un efecto neurotrófico y jugar un rol destacado en la diferenciación normal de la neurona (Ishii y Maniatis, 1978; Riopelle y Kennedy, 1982).

Las hipótesis propuestas revelan que el efecto tóxico potencial del ALA y/o PBG, como causa del síndrome neurológico en las porfirias agudas es un tema de investigación relevante, aún cuando el trabajo clínico y experimental presentan muchas dificultades.

V.5.7. Factores precipitantes

La PAI es una enfermedad genética que puede existir en forma latente durante un período indefinido de tiempo o aún no manifestarse nunca. Muchos de estos pacientes pueden llevar una vida normal sin experimentar jamás ningún trastorno neurológico. De manera que la falla hereditaria puede permanecer inocua, hasta que algún factor exógeno o endógeno se superimponga sobre la misma y entonces altere ese equilibrio particular entre la fase normal y la aguda, desencadenando la enfermedad. En realidad este fenómeno de interacción entre ciertos factores y el defecto metabólico específico hereditario es común a todas las porfirias.

En el caso de la PAI se conocen una gran serie de factores que pueden convertir la enfermedad latente en manifiesta clínica y bioquímicamente, es decir desencadenar un ataque agudo de porfiria y aumentar la excreción urinaria de los precursores ALA, PBG, y porfirinas (Batlle y col., 1981; Moore y col., 1981). Entre ellos se pueden incluir ciertos medicamentos, ciertos esteroides, el alcohol, el ayuno y las infeccio-

nes (Tschudy, 1978; Mc Coll y Moore, 1981). Queremos enfatizar que los factores precipitantes no son siempre de origen exógeno, si bien es cierto que estos son probablemente con más frecuencia los responsables de la inducción de las crisis agudas en esta enfermedad.

Se ha demostrado experimentalmente que estos factores producen alteraciones en la biosíntesis del hemo y dan lugar también a un aumento en la actividad del ALA-S, lo cual exacerba aún más el cuadro anormal de síntesis de intermediarios.

Estos compuestos actúan por mecanismos diferentes según el tipo de estructura y función que poseen, pero se acepta que, en general, lo que producen es una disminución de la concentración del pool de hemo libre, ya sea, por un bloqueo en una etapa previa a su síntesis, o por un aumento en su utilización para la formación de hemoproteínas como el citocromo P₄₅₀, involucrado en los procesos de detoxificación o eventualmente por un incremento de su degradación; el resultado neto sería en todos los casos, una menor disponibilidad del hemo libre, que llevaría a un aumento secundario de la actividad del ALA-S por de-represión. Existen todavía otros mecanismos posibles de acción para ciertos compuestos porfirinogénicos y aún no está aclarado como actúan por ejemplo algunas hormonas y el ayuno en la inducción del ALA-S.

Se ha identificado a las porfirias agudas como enfermedades farmacogenéticas, es decir se trata de enfermedades transmitidas genéticamente en las cuales se producen reacciones adversas ante la administración de una gran familia de medicamentos de uso frecuente en la terapia clínica.

Recordemos que precisamente el primer caso de porfiria aguda, fue la consecuencia del uso de Sulfonal en una paciente con trastornos neurológicos (Stokvis, 1895). Hoy día se conocen una gran familia de potentes agentes porfirinogénicos que como dijimos interfieren con la formación del hemo, induciendo un ulterior incremento del ALA-S, lo cual agrava aún más el cuadro ya anormal debido a la deficiencia relativa de la enzima específicamente afectada en cada porfiria.

La multiplicidad de las estructuras del medicamento hace difícil, con frecuencia predecir si una sustancia puede o no ser porfirinogénica (Marks, 1978). Ciertos grupos de medicamen

tos como los barbitúricos, pueden ser identificados inequívocamente como inseguros pero existen muchos otros grupos de un o rigen no tan bien definido. Los únicos factores demostrados que están claramente vinculados con la porfirinogenicidad son la solubilidad lipídica (DeMatteis y Aldridge, 1978) y la fluidización de la membrana que es la capacidad para distorsionar la doble capa fosfolipídica de la membrana celular (Nielson y col., 1979). Ciertos grupos químicos han sido vinculados también con la inducción de porfiria. Ejemplo de ello son los radicales alilo, núcleos básicos de los barbitúricos y ciertos esteroides.

V.5.7.1. Esteroides

Granick demostró en 1966 que cierto grupo de drogas podían producir diferentes grados de porfiria y entre ellas las hormonas esteroides sexuales: testosterona, estradiol, progesterona y varios metabolitos de esteroides sexuales 5β -H, cumplían un rol muy destacado.

Esto llevó al grupo de Granick y col. a postular que ciertos esteroides de C19 y C21 (Figura V.5.) producían un marcado aumento de la síntesis de porfirinas tanto en células hepáticas como eritropoyéticas, por inducción del ALA-S (Granick y Kappas, 1967; Levere y col., 1967; Kappas y col., 1968).

En la historia de la PAI hay una relación muy significativa entre la influencia endócrina y la total expresión clínica de la enfermedad después de la pubertad. Al estudiar la interacción de factores endócrinos y genéticos en pacientes con PAI declarada se encontró una disminución de la Δ^4 5α -esteroides reductasa, como consecuencia de lo cual se acumulaban 5β -esteroides que inducían el ALA-S (Kappas y col., 1974).

Durante mucho tiempo se aceptó que existía un pre-requisito estructural para que los esteroides fueran inductores de porfiria, proponiéndose que sólo eran activos los de la configuración 5β -H, en los cuales los anillos A y B del grupo esteroideo estaban en posición cis (Figura V.6.).

Utilizando los mismos cultivos de células hepáticas de embrión de pollo que el grupo de Granick, Fischer y col. (1977) de mostraron que los 5α -H (A:B trans) y los 5β -H (A:B cis) este-

roides eran equipotentes en su capacidad inductora sobre el ALA-S y la biosíntesis de porfirinas.

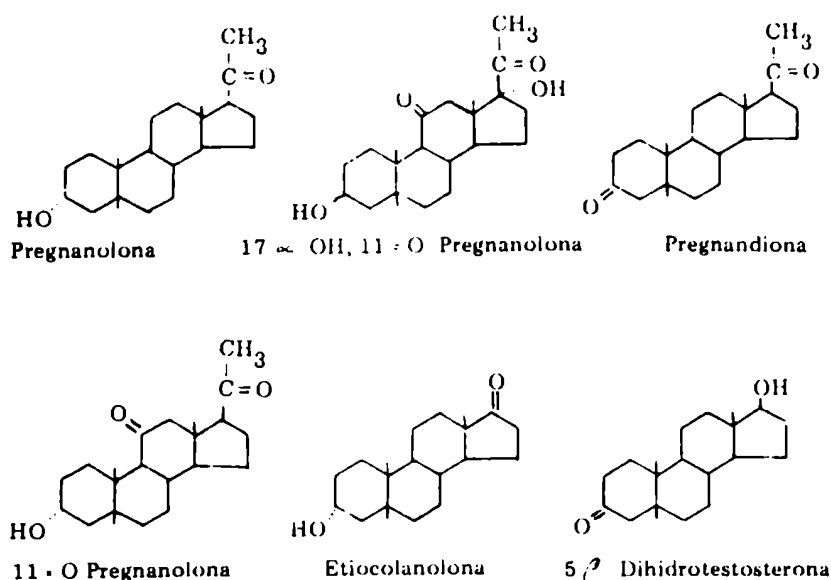


Figura V.5.: *Compuestos representativos de tipo 5 β -Pregnano y 5 β -Androstano, capaces de inducir fuertemente el ALA-S.*

En 1979, Anderson y col., siguiendo con la misma línea de trabajo, estudiaron los niveles de Δ^4 -5 α -esteroide reductasa en tres grupos de pacientes: el primero estaba compuesto por pacientes con PAI declarada, el segundo por PAI latentes y el tercero por sujetos normales. Se les inyectó 4- 14 C testosterona y 1,2, 3 H-11-hidroxiandrostenediona, encontrando disminución de la enzima Δ^4 -5 α -esteroide reductasa sólo en el grupo de pacientes con PAI declarada. El hecho de no observar reducción de la actividad enzimática en PAI latente pero sí en PAI manifiesta, aún en etapa de remisión llevó a los autores a proponer que este defecto podría ser una consecuencia del prolongado período de exacerbación clínica o bien que muestra una predisposición metabólica de la expresión clínica en la deficiencia de la PBG-asa.

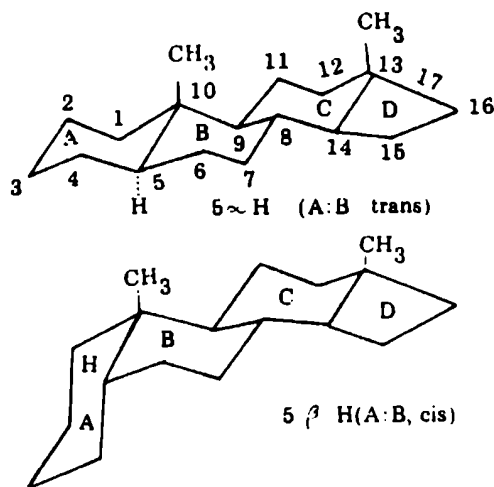


Figura V.6.: Representación estereoquímica de las estructuras nucleares básicas de los metabolitos de esteroides.

V.5.7.2. Menstruación

Existe una considerable evidencia clínica acerca de la influencia de las hormonas sexuales femeninas en las porfirias agudas (Zimmerman y col., 1966).

Como hemos dicho, generalmente, las manifestaciones clínicas de la PAI aparecen después de la pubertad. Algunas mujeres porfíricas padecen ataques periódicos premenstruales (Perlroth y col., 1965). Incluso, la actividad del ALA-S leucocitaria presenta un pico previo a la menstruación (Mc Coll y col., 1982). Además, se conocen estrógenos exógenos que afectan el metabolismo porfirínico (Zimmerman y col., 1966), pueden precipitar el ataque agudo (Pimstone, 1975) y producir oscilaciones en la actividad del ALA-S (Tschudy y col., 1967).

V.5.7.3. Embarazo

Durante el embarazo, los tejidos maternos, fetales y placentarios juegan un papel muy importante en la producción y metabolización de hormonas esteroides (Moore, 1982).

Si bien el patrón de ataques agudos en las pacientes embarazadas varía considerablemente, tanto entre pacientes como entre los distintos embarazos de cada una de ellas, los momentos de máximo riesgo parecen ser los del inicio del embarazo y del puerperio, donde existe más posibilidad de alteracio-

nes bruscas en el equilibrio de las hormonas esteroides. En un análisis realizado por Brodie y col.(1977b) sobre las historias obstétricas de 50 pacientes con PAI, se observó que el 54% presentaban un ataque agudo durante el embarazo y/o puerperio, registrándose sólo una muerte materna.

V.5.7.4. Anestésicos

Es importante destacar el rol que cumplen los anestésicos entre los factores desencadenantes de los ataques agudos en las porfirias.

Como sucede con las drogas en general, la inocuidad de los distintos anestésicos es bastante controvertida. Mientras la "Altesina" está catalogada como peligrosa, tanto en animales (Parikh y Moore, 1975) como en humanos (Wetterberg, 1976; Blekkenhorst y col., 1980); sin embargo, otros autores recomiendan su uso en casos de porfiria (Churchill y Davidson, 1978). En cuanto a la "ketamina", en dos trabajos realizados en animales se obtuvieron resultados opuestos (Parikh y Moore, 1975; Kostrzewska y Gregor, 1978), en tanto que en la práctica clínica se utilizó dos veces en un mismo paciente con resultados satisfactorios (Rizk y col., 1977). Debido a que la ketamina produce un incremento en la presión arterial no se recomienda en casos de pre-eclampsia (Meer y col., 1973). Allen y Rees (1980) utilizaron con éxito la combinación de suxametonina, tubocarina, metoxifurano, petidina y syntocina en la realización de una cesárea en una paciente porfírica con severa pre-eclampsia.

Asimismo, existen diferentes opiniones respecto al uso de anestésicos volátiles. "Halothane" fue utilizado con éxito tanto en humanos (Rizk y col., 1977) como en animales (Parikh y Moore, 1978); a pesar de haber sido declarado inapropiado en otra oportunidad (Wetterberg, 1976).

Vickers (1977) considera como anestésicos inocuos en casos de porfirias, "halothane" y "metoxiflurane", mientras que el último resultó inadecuado en animales (Parikh y Moore, 1978). En cuanto a la utilización del "enflurane", Parikh y Moore (1978) demostraron su efecto porfirinogénico en ratas, mientras que Stone y Munson (1979) la emplearon con éxito en

un paciente con PAI.

En general, se recomienda evitar el uso de anestésicos locales tanto en las porfirias agudas como en todas las enfermedades capaces de producir síntomas neurológicos, luego de una intervención quirúrgica (Katz y Kadis, 1973; Atkinson y col., 1977; Vickers, 1977; Churchill y Dadvinson, 1978).

En 1980, Blekkenhorst y col. estudiaron el efecto de ciertos anestésicos sobre ratas tratadas con DDC, llegando a la conclusión de que "etodinato" y "minaxolona" son recomendables para su uso en porfiria humana, mientras que "altesina" y "fluritrazepán" pueden llegar a ser peligrosas.

Ante evidencias tan dispares, no resulta fácil la elección de los distintos anestésicos y es evidente que no se pueden extrapolar a pacientes los resultados obtenidos en animales. En última instancia, la porfirinogenicidad de los anestésicos sólo puede conocerse con certeza luego de obtener la respuesta de cada paciente en particular.

En base a la experiencia recogida de un grupo muy numeroso de investigadores de todo el mundo se han elaborado listas de compuestos (componentes de medicamentos) que se consideran inseguros y seguros para su uso en el tratamiento de las porfirias agudas (Batlle y col., 1981) y se ilustran en las Tablas V.7. y V.8. siendo cada día más creciente el interés de los clínicos así como de los mismos pacientes, en disponer de esta información, lo cual permite un manejo más fácil de esta enfermedad tan polifacética.

V.5.8. Control y tratamiento

Se desea enfatizar que en el tratamiento de las porfirias, es fundamental, en primer lugar, determinar con seguridad cuál es el tipo de porfiria y además, es esencial que en las porfirias hereditarias se identifiquen los casos latentes. Es importante la profilaxis, en particular en cuanto a evitar el empleo de factores inductores, tales como las drogas listadas en la Tabla V.7.

Respecto a terapias específicas para el control del ataque agudo de estas porfirias, se ha sugerido el tratamiento

con carbohidratos (Brodie y col., 1977); el uso de β -bloqueantes (Douer y col., 1978); hematina (Watson y col., 1978) y más recientemente, el empleo de ácido fólico (Wider de Xifra y col., 1980; Juknat de Geralnik y col., 1981) y glucagón (Forrest y Öberg, 1982; Forrest, 1983).

V.5.8.1. Tratamiento con hidratos de carbono

La reducción de la excreción de precursores urinarios después de una elevada ingestión de carbohidratos está bien documentada, pero el mecanismo de acción de los mismos es sólo hipotético (Bonkowsky y col., 1976).

En ratas, la administración de glucosa bloquea la inducción del ALA-S hepática (Rose y col., 1961; Tschudy y col., 1964; Marver y col., 1966). La habilidad de la glucosa para inhibir la síntesis de ciertas enzimas se conoce como "efecto glucosa" o "represión catabólica" (Bonkowsky y col., 1973; Goldberg, 1974). De gran interés fueron los estudios realizados por el equipo de Tschudy sobre el efecto de la dieta en la excreción de precursores de porfirinas en pacientes con PAI (Welland y col., 1964), donde observaron que la fluctuación diaria en el contenido urinario de ALA y PBG en pacientes asintomáticos, disminuía marcadamente por la ingestión de una dieta balanceada en el contenido de proteínas, grasas e hidratos de carbono, para mantener el peso constante. Al reducir la dieta entre un 60-80% de su valor calórico se producía un aumento en la excreción de ALA y PBG; mientras que el agregado de hidratos de carbono a la dieta, revertía este efecto. Estas observaciones fueron confirmadas por Felsher y Redeker (1967), en un grupo de pacientes con PAI y por Perlroth y col. (1968), en pacientes con Porfiria Variegata.

Redeker y Sterling (1968) encontraron que la ingesta de una dieta rica en hidratos de carbono, en pacientes con PPE, disminuye la excreción de porfirinas fecales.

En base a los estudios realizados en ratas por Bonkowsky y col. (1973) sobre el efecto glucosa y otros azúcares sobre la actividad del ALA-S hepática, previamente inducida con AIA; se comprobó que el glicerol y la fructosa ejercían una acción similar a la de la glucosa, mientras que la galactosa era me-

nos efectiva que la levulosa y la ribosa o el sorbitol no producían ningún efecto. De acuerdo a estos resultados, los autores postularon que el mediador del "efecto glucosa" era la glucosa misma y que la acción eficaz de los hidratos de carbono en reprimir la enzima estaba relacionada con la velocidad a la cual dichos hidratos se convierten en glucosa.

La sobrecarga de hidratos de carbono se recomienda en los ataques agudos de porfiria. El régimen, basado en la administración de levulosa por vía intravenosa, a razón de 2 litros por día de solución de levulosa al 20% 1 M (500 ml cada 5 horas). Una vez mejorado el paciente se mantiene con una dieta rica en carbohidratos (200 g/día) y proteínas (100 g/días) (Brodie y col., 1977c).

Doss y Verspohl (1981), estudiaron el "efecto glucosa" en pacientes con distintos tipos de porfiria hepática aguda, administrando una dieta hidrocarbonada en forma de infusiones intravenosas de glucosa (500 g/24 horas), obteniendo una excelente respuesta clínica y bioquímica en la mayoría de los casos estudiados.

La respuesta positiva en la aplicación de una dieta hiperhidrocarbonada en distintos tipos de porfiria humana, sugiere que el "efecto glucosa" sobre el metabolismo de las porfirinas es bastante complicado y aparentemente no está sólo restringido a la represión del ALA-S (Doss y Verpohl, 1981). Se ha demostrado que la glucosa inhibe la Protogen-oxidasa en *S. cerevisiae* (Poulson, 1976). El ayuno produce la disminución de la actividad la Coprogenasa porcina (Smith y El-Far, 1980). La levulosa produce aumento de las actividades de las enzimas intermedias de la biosíntesis del hemo (Brodie y col., 1977c). Además, la restricción calórica aumenta el catabolismo del hemo en adultos llevando a una disminución del tetrapirrol libre regulatorio (Srivastava y col., 1980).

Al igual que lo observado en ratas (Bonkowsky y col., 1973), la fructosa y el glicerol, como la glucosa producen una menor excreción de precursores y una mejoría en los síntomas clínicos en pacientes con PAI (Brodie y col., 1977c; Bonkowsky y col., 1980).

Tabla V.7.: Lista de drogas que pueden precipitar ataques de Porfíria Aguda.

Alfaxalona	Estreptomicina	Metronidazol
Aluminio	Estrógenos	Nalidíxico, ácido
Aminoglutetimida	Etaclorovinol	Niketamida
Amitriptilina	Etanol	Nitrazepan
Anfetamina	Etilamato	Nitrofurantoina
Apronalida	Etomidato	Novobiocina
Azapropazona	Eucaliptol	Oro, prep.de (Aurotioma-
Barbituratos	Fenelzina	lato)
Bemegrida	Fenilbutazona	Oxazepam
Busulfan	Fenilhidrazina	Oxazolibinedionas (*)
Carbomal	Fenoxibenzamina	Pancuronium
Carbamazepina	Flufenámico ácido	Pargilina
Ciclofosfamida	Flunitrazepam	Pentazocina
Clonidina	Fluroxina	Pentilenetetrazo
Clorambucil	Frusemida	Pirazolona (**)
Cloranfenicol	Glutetimida	Pirazinamida
Clordiazepóxido	Griseofulvina	Primidona
Clormetiazol	Halotano	Probenecid
Clormezazona	Hidantoínas	Progesterona
Cloroformo	Hidralazina	Rifampicina
Cloroquina	Hidroclortiazida	Spironolactona
Clorpropamida	Hiscina, butilbromuro	Succinimidas (***)
Cocaína	Hinipramina	Sulfonal
Colistina	Isoniazida	Sulfonamidas
Contraceptivos orales	Isopropilmeprobamato	Sulfonilurias
Danazol	Lignocaína	Sultiam
Dapsona	Mefenámico, ácido	Tetraciclinas
Dicloralfenazona	Mefenazina	Teofilina
Dietilpropión	Meprobamato	Tolazamida
Dimenhidrinato	Metildopa	Tolbutamida
Enflurano	Metilprilona	Tranicilpromina
Ergot (preparaciones)	Metirapona	Trional
Eritromicina	Metoclopramida	Troxidona
Esteroides	Viloxazina	Xilocafina

(*) Parametadiona y Trimetadiona

(**) Amidopirina, Antipirina, Isopropilantipirina, Dipirona, Fenil-dimetil-pirozolona.

(***) Isosuccimida, Metsuccimida, Fensuccimida.

Tabla V.8.: *Lista de drogas que se consideran seguras para su uso en las Porfirias Agudas.*

Acetazolamida	Difenhidramina	Nitroso, óxido
Adrenalina	Digitálicos, compuestos	Nortriptilina
Alclofenac	Disopiramida	Quinina
Ametocaína	Droperidol	Paracetamol
Aspirina	EDTA	Paraldehído
Atropina	Eter	Penicilinas
Biguanidinas (*)	Fenoperidina	Penicilamina
Bromuros	Fentanil	Petidina
Bumetanida	Fludiprofen	Prednisolona
Bupivacaina	Gentamicina	Prilocaina
Buprenorfina	Glipizida	Primaquina
Cefalexina	Guanetidina	Procaína
Cefalosforinas	Heparina	Proclorperazina
Ciclizina	Hiocina	Prometazina
Ciclopropano	Ibuprofen	Propantelina, bromuro
Clobazan	Indometacina	Propanidid
Clofibrato	Insulina	Propanolol
Cloral, Hidrato	Ketamina	Propoxifeno
Clorazepam	Ketoprofem	Prostignina
Clorfeniramina	Labetalol	Reserpina
Clorpromazina	Litio	Resorcinol
Clortiazidas	Mandelamina	Succinilcolina
Codeína	Mecanilamina	Triazidas
Colchicina	Meclozina	Tiouracilos
Corticostiroides	Mersalil	Trifluoperazina
Dexametasona	Metadona	Tripelenamina
Diamorfina	Metilfenilato	Tubocuranina
Diazepam	Morfina	Valproato
Diazóxido	Naproxen	Vincristina
Dicumarol anticoagul.	Neostignina	

(*) Fenformina, Metformina.

Durante el tratamiento con fructosa en pacientes con PAI, se observa una disminución en la actividad de ALA-S leucocitaria e incremento en la actividad de la Deaminasa eritrocitaria (Brodie y col., 1977c).

Se debe hacer notar que la respuesta de los distintos pacientes a una dieta altamente hidrocarbonada varía, desde una mejoría clínica espectacular hasta un pequeño o ningún efecto. Todavía no hay explicación para este hecho. Se puede suponer, en los casos de PAI, que la anormalidad en el metabolismo de los hidratos de carbono hace disminuir la tolerancia a la glucosa, llevando a una utilización poco efectiva de los mismos. Probablemente exista, en los pacientes con PAI una alteración

metabólica gluconeogénica asociada con una disminución en la relación insulina-glucagón (Doss y Versphol, 1981). Estudios realizados en células de hígado de embrión de pollo muestran que la inducción de la síntesis de porfirinas por AIA depende de una baja relación insulina-glucagón (Fischer y col., 1978). Esta relación hormonal también fue estudiada en plasma humano de sujetos no porfíricos sometidos a distintas dietas (Unger, 1972; Cahil, 1976) comprobándose que el glucagón activa la adenilato ciclase hepática aumentando el contenido de AMPc en hígado (Exton y Park, 1972; Pilkis y col., 1975; Seitz y col., 1976). La insulina actúa como antagonista en la elevación del AMPc. Por lo tanto, la relación de estas dos hormonas y su control sobre el nivel de AMPc hepático ofrece una buena explicación para la represión del ALA-S por glucosa tanto en animales como en humanos (Marks y col., 1979). A partir de esta hipótesis se administró glucagón intravenosamente a tres pacientes durante ataques leves de porfiria aguda obteniendo resultados ampliamente satisfactorios (Forrest y Oberg, 1982; Forrest, 1983).

Los interrogantes sobre el "efecto glucosa" conciernen a la represión de la inducción del ALA-S por los hidratos de carbono, a la síntesis de RNA, a la actividad de los glucocorticoides y al rol de AMP y GMP cíclicos.

El "efecto glucosa" parece estar mediado por factores intra y extrahepáticos. Tanto la glucosa como la hemina inhiben la inducción por drogas del ALA-S hepática y el transporte de ALA-S soluble a la mitocondrial.

Aparentemente, en forma independiente de estos mecanismos, los factores hormonales modulan la síntesis de porfirinas hepáticas, dado que la inducción del ALA-S disminuye al aumentar la relación insulina-glucagón, con una consecuente disminución del AMPc, el cual puede jugar un rol permisivo en la inducción del ALA-S, semejante a los glucocorticoides. Con respecto a la influencia de factores hormonales sobre el ALA-S hepática, los hallazgos y evidencias son controvertidos. Una hipótesis atractiva fue la idea de que el "efecto glucosa" podía deberse a un efecto "anti-stress" que limita la secreción de glucagón y catecolaminas llevando a una disminución de la concentración de AMPc hepático (Doss y Verspohl, 1981).

Otra de las razones de la eficacia de los carbohidratos probablemente recae en la represión de catabolitos mediados por la glucosa o glucosa 6P (Bonkowsky y col., 1973). Uno de estos mediadores podría, entonces estimular la formación de ácido glucurónico, el cual aumenta la glucuronidación de esteroides porfirinogénicos.

Es evidente que hasta el momento no se ha podido aclarar el mecanismo mediante el cual los hidratos de carbono reprimen principalmente la actividad del ALA-S hepática. Sin embargo, Doss y Verspohl (1981) propusieron un mecanismo de acción de la glucosa sobre la regulación de la biosíntesis de tetrapirroles (Figura V.7.).

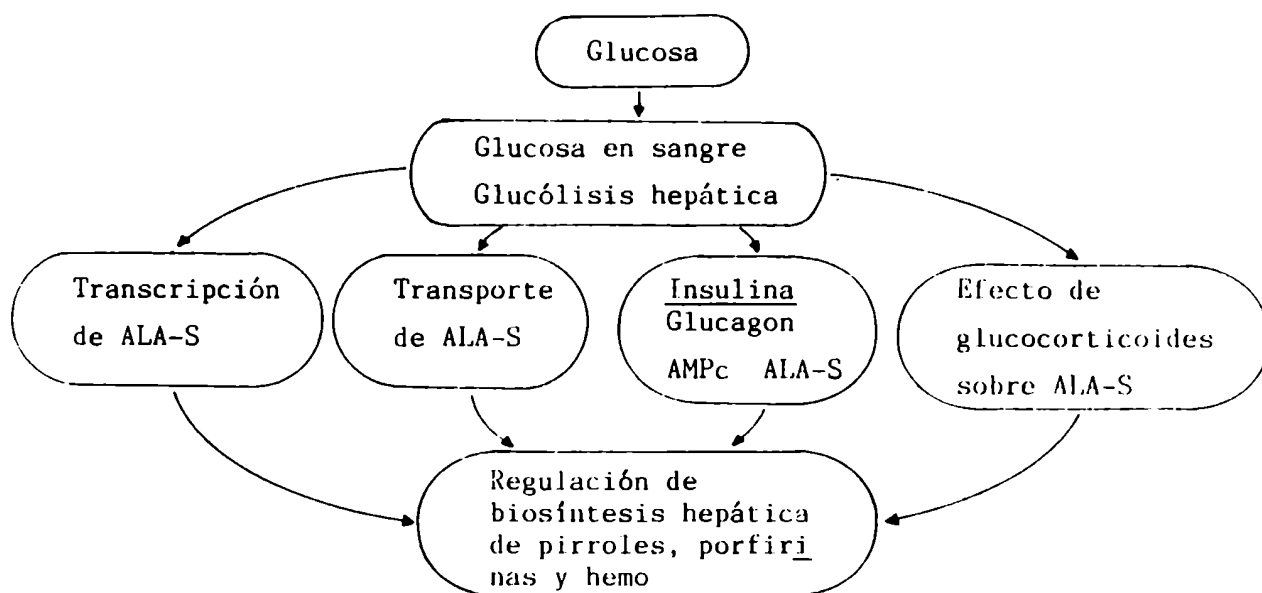


Figura V.7.: *Efectos de la glucosa sobre la biosíntesis hepática de pirroles y porfirinas.*

V.5.8.2. Tratamiento con hematina

La acción del hemo sobre el ALA-S fue observada por primera vez en el año 1960 por June Lascelles en *Rp. spheroides*, probándose recién 10 años más tarde su acción terapéutica en un paciente porfírico (Bonkowsky y col., 1971).

La hematina (Figura II.8.), que se puede obtener de las células rojas, reprime el ALA-S, reduce la sobreproducción de porfirinas y precursores y da lugar a una mejoría clínica del paciente. La mayor parte de la hematina administrada se liga rá

pidamente a las globulinas hemopexina y albúmina (Lamon y col., 1979). Mientras el complejo albúmina-hematina se mantiene como reserva plasmática, el complejo hemo-hemopexina es captado por el hígado. En la célula hepática, el hemo (Wochner y col., 1974; Petryka y col., 1976) además de reprimir el ALA-S, va a aumentar la concentración de hemo celular el cual da origen al citocromo P₄₅₀ (Correia y col., 1979; Farrel y Correia, 1980). Finalmente, la hematina exógena es degradada y excretada como bilirrubina (Tenhunen, 1970).

Es necesario que la hematina complejada traspase primero la membrana citoplasmática y luego la mitocondrial. Durante este pasaje y para que sea efectivo el tetrapirrol, se reduce el hierro del estado férrico al ferroso.

La evidencia experimental en cultivo de células hepáticas de embrión de pollo (Sinclair y Granick, 1976) indica que esto ocurre; facilitándose también un aumento en el crecimiento de neuritas, observado en cultivo de neuroblastomas de ratón, con lo cual se incrementa el potencial de reparación del tejido nervioso (Ishii y Maniatis, 1978).

El tratamiento con hematina es generalmente bien tolerado, aunque tiene algunos efectos colaterales tales como irritación venosa y acción anticoagulante debido quizás a la interferencia con la trombina y la polimerización de monómeros de fibrina (Pierach y col., 1981; Morris y col., 1981).

Mc Coll y col. (1979) monitorearon la actividad del ALA-S leucocitaria durante un ataque prolongado de PAI y observaron que el desmejoramiento clínico estaba asociado a un incremento pronunciado en la actividad del ALA-S y la excreción urinaria de ALA, los que eran revertidos mediante el tratamiento con hematina. Jeelani Dhar y col. (1978) observaron que elevadas concentraciones de hematina producían insuficiencia renal mientras que esto no ocurría cuando se empleaban cantidades menores de hematina (Jeelani Dahr, 1975).

En un estudio realizado en 109 pacientes tratados con hematina sólo en tres casos se observaron hemorragias provocadas probablemente por la presencia de heparina la que debe evitarse durante el tratamiento con hematina (Pierach, 1982). Si bien empleando esta terapia la mayoría de los pacientes presentan remisión clínica, en algunos casos esta mejoría es parcial,

y en otros tienen un desenlace fatal (Pierach y col., 1980; Pierach, 1982); provocado esto último por la administración insuficiente o por un inicio tardío del tratamiento (Bosch y col., 1977). Sin embargo, de acuerdo a la experiencia de Pierach (1982) en la aplicación de este tratamiento, todos los pacientes que reciben hematina antes de la aparición de complicaciones respiratorias, sobreviven al tratamiento.

Los síntomas clínicos en pacientes de sexo femenino con PAI relacionados con la menstruación, también han sido tratados efectivamente con hematina. Lamon y col. (1978) emplearon la aplicación intravenosa de 200 mg de hematina una vez por semana durante 6 meses en una paciente de 32 años, que padecía ataques agudos regulares durante su ciclo menstrual; éstos desaparecieron durante el tratamiento pero recurrían al suspender el mismo. La dosis de hematina debe administrarse lentamente (10-15 minutos) en forma intravenosa para evitar tromboflebitis (Pierach, 1982).

Watson y col. (1978) han comparado la eficacia del tratamiento con glucosa con el de hematina, encontrando que ambos son efectivos; la hematina tiene mayor ventaja en casos en que el paciente no responde a la terapia con glucosa y además, la remisión se logra mucho más rápido con hematina que con glucosa.

No todos los casos de ataque agudo requieren la utilización de hematina. En aquellos donde el único síntoma es el dolor abdominal y no se observa empeoramiento del cuadro clínico, es más rápida la administración de glucosa y/o ácido fólico.

En general, se recomienda en los ataques agudos de PAI comenzar el tratamiento con glucosa (400-500 g/día) y ácido fólico (30 mg/día); si no hay respuesta dentro de las primeras semanas se sigue con el tratamiento con hematina (1-4 mg/kg) durante 3 a 15 días (Jeelani Dahr y col., 1975; Wider de Xifra y col., 1980; Pierach, 1982).

Recientemente Tenhunen y col. (1984) prepararon arginato de hemo (Normosang) el cual fue utilizado con éxito en el tratamiento de las porfirias hepáticas agudas (Mustajoki y col., 1984). El Normosang fue administrado a 6 pacientes con PAI en remisión (dosis de 2 ó 3 mg/kg/día) durante 4 días consecutivos, observándose una importante disminución en la excreción urina-

ria de ALA y PBG. Además, se utilizó esta terapia en 2 pacientes con PAI durante el episodio agudo (3-4 mg/kg/día durante 3 a 4 días) con cese del dolor abdominal al segundo día y en uno de estos dos casos en el que el paciente presentaba manifestaciones clínicas de polineuropatía, éstas disminuyeron a partir del cuarto día de tratamiento (Mustajoki y col., 1984).

V.5.8.3. Tratamiento con β -bloqueantes

El propanolol se utiliza frecuentemente en los pacientes que deben controlar la hipertensión y la taquicardia en los ataques agudos de porfiria (Beattie y col., 1973), aunque la administración de altas concentraciones (284 mg/día) de propanolol produce remisión clínica y bioquímica de los ataques agudos en PAI (Douer y col., 1978) y en PV (Atsmon y col., 1972; Blum y Atsmon, 1976).

A partir de los estudios realizados en animales con porfirias agudas (Schoenfeld y col., 1976) se explicó la acción de los β -bloqueantes como el resultado de una represión parcial de la inducción del ALA-S (Epstein y col., 1982).

V.5.8.4. Tratamiento con ácido fólico

De gran interés en el tratamiento de las porfirias agudas fue la detección de un factor termoestable, de bajo peso molecular, capaz de activar la PBG-asa de *Euglena gracilis*. El estudio de sus propiedades indicó que podría tratarse de un derivado del ácido fólico (Rossetti y col., 1980). Por otro lado, Tephly (1975) y Piper y Van Lier (1977) habían observado que ciertos compuestos pteridínicos estimulaban la actividad de la PBG-asa en hígado de rata y sugirieron que tales derivados podrían actuar como enzimas o reguladores de la conversión del PBG en uroporfirinógenos.

En base a estos resultados es que fue de interés para el grupo de Batlle, aplicar una nueva terapia, consistente en la administración de ácido fólico en la PAI en el comienzo del ataque o bien una vez instalado el mismo. Los resultados serán presentados y discutidos en el Capítulo III de Resultados.

En Rusia, Kotova y col. (1980) también utilizaron con éxito este tratamiento combinado con la administración del complejo B. A la paciente durante la fase aguda se le inyectó en forma i.v. y s.c.: 2 mg de ácido tetrahidrofólico, 500 µg vitamina B₁₂, 1 ml vitamina B₁ 5%, 1 ml vitamina B₆ 5% y 100 µg de carboxilasa. La enferma, que había llegado a un estado de parálisis aguda, presentó tal mejoría luego del tratamiento que a los tres meses de iniciado el mismo, ya caminaba.

El ácido fólico es una vitamina ampliamente distribuida. Su deficiencia en mamíferos se manifiesta por falta de crecimiento y ciertas formas de anemia. Contiene tres bloques estructurales característicos (Figura V.8.): 1) una pteridina sustituida; 2) ácido p-aminobenzoico y 3) ácido glutámico. Se la conoce también como ácido pteroilglutámico.

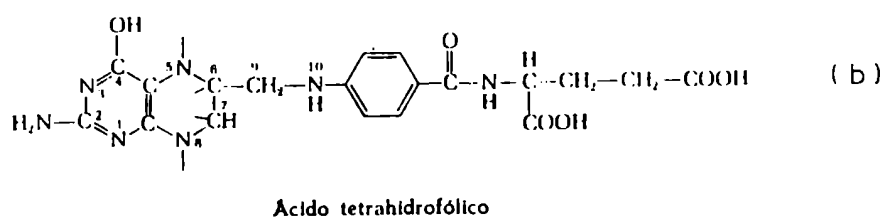
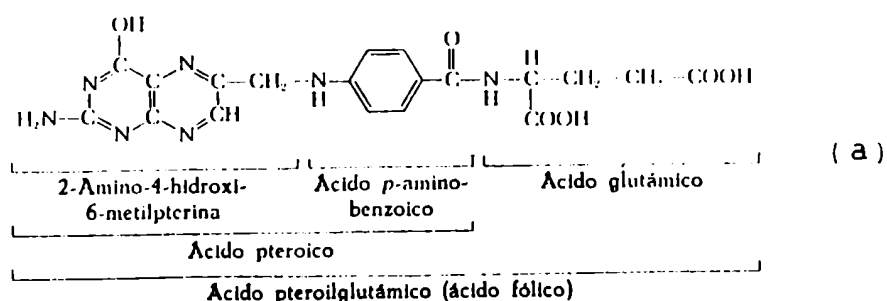


Figura V.8.: Estructura de los ácidos fólico (a) y tetrahidrofólico (b).

Algunos organismos no necesitan la molécula completa para crecer, sino solamente la porción del ácido p-aminobenzoico.

El ácido fólico no actúa como coenzima, la coenzima activa es, en cambio, el ácido tetrahidrofólico (THF) (Figura V.8 b).

El carbono del grupo formilo presente en el THF es utilizado en numerosas e importantes reacciones que influyen sobre la fisiología del sistema nervioso central. Una de ellas es la formación del ácido glutámico a partir de la degradación de la histidina, considerándose que el ácido glutámico formado juega un posible rol mediador químico excitante a nivel de los centros cerebrales (Laborit, 1978).

El grupo formilo del THF es también la fuente de los C_2 y C_8 necesarios para la formación de la pterina, que caracteriza a las bases ptéricas adenina y guanina. Por lo tanto el ácido fólico es importante en la síntesis del RNA y DNA. Además, estas bases púricas son indispensables para la formación de compuestos ricos en energía como ATP y GTP. Por lo tanto se puede deducir que el ácido fólico intervendría en la síntesis proteica y en consecuencia, en el establecimiento de la memoria a largo término y sobre la actividad del sistema nervioso. La formación del carbono β de la serina por conversión de la glicina en serina implica la intervención del ácido fólico. Mientras la glicina está considerada como un inhibidor del sistema nervioso central, la serina dará origen a la colina, la cual al acetilarse se transformará en acetilcolina. Además, la colina interviene en la síntesis de fosfolípidos tales como lecitinas o esfingomielinas y en la formación de etanolaminas o cefalinas (fosfatidiletanolaminas). Por lo tanto, podemos deducir la importancia del ácido fólico sobre la síntesis de las membranas neuronales y de la mielina (Laborit, 1978).

El ácido THF es necesario en la metilación de la homocisteína para obtener metionina y ésta es el principal donador de grupos metilos en el organismo.

Dentro de las metilaciones que intervienen en el funcionamiento del sistema nervioso central, debemos referirnos a la transformación de nor-adrenalina en adrenalina, así como la ortometilación de las neuroaminas sobre el catecol, por la cate

col-o-CH₃ transferasa, primera etapa de la degradación extra-neuronal.

Meller y col. (1975) consideraron la N-metilación de las aminas biógenas como el origen de la esquizofrenia.

Otra de las reacciones importantes que tienen relación con el funcionamiento del sistema nervioso central, son aquellas en las cuales el ácido fólico actúa como cofactor de la fenilalanina hidroxilasa, y de la L-tirosina hidroxilasa (Laborit, 1978).

En cuanto al destino del ácido fólico exógeno, éste a parece en plasma a los 30 minutos de su ingestión y si bien to dos los tejidos del organismo lo fijan mediante un mecanismo de transporte activo (Herbert y Zaluzki, 1962), el líquido cefaloraquídeo lo concentra selectivamente (Herbert y Zaluzky, 1961).

V.5.8.5. Tratamiento con corticoesteroides

Los corticoesteroides se han utilizado en casos de porfíriopatías producidas por la PAI.

Eales y Linder (1962) obtuvieron una respuesta favorable en un caso tratado con pequeñas dosis de prednisona por corto tiempo.

Jusic y col. (1976) realizaron una terapia prolongada con grandes cantidades de corticoesteroides y ACTH en 2 hermanas observándose una total remisión en ambas pacientes. El tratratamiento consistió en la administración de ACTH, Ultracorten H y Lederkort durante varios meses, luego de los cuales continuaron ingiriendo 4 mg de Lederkort diarios.

V.5.8.6. Otros tratamientos

Se han realizado varios intentos para obtener otras terapias aplicables a la porfiria aguda. En general no han tenido éxito. Podemos citar el tratamiento con AMP (Doss y Versphol 1981; Gajdos y Gajdos-Török, 1981); con vitaminas como la B₆ (Moore, 1982) o terapias con quelantes (Peters y col., 1957, 1958; Roman y col., 1967). Doenecker y col. (1980) utilizaron

furosamida y digoxina, junto con una dieta rica en hidratos de carbono en una joven de 15 años que padecía PAI, obteniendo mejoría al día siguiente de iniciado el tratamiento.

Además de estas terapias específicas, las característiicas individuales de las porfirias agudas requieren ciertos tratamientos del tipo indicado en la Tabla V.9. Para los dolores abdominales es preciso un fuerte analgésico. La petidina y dehidrocodeína pueden llegar a controlar el dolor pero a veces se requieren analgésicos más poderosos tales como la morfina o sus análogos. Para el vómito, se recomienda el uso de promazina, en tanto que el propranolol u otros β -bloqueantes pueden controlarar la taquicardia e hipertensión; para ésta última se ha encontrado también buena respuesta a la guanetidina, reserpina y diazóxido. La comúnmente observada neurosis y psicosis pueden tratarse con cloropromazina, promazina y trifluor-perazina, en tanto que los malestares asociados, con acetazolamida, diazepán, clorometiazol, valproato de sodio y cloranazepán. Cuando también ocurre constipación, ésta suele ser tan severa que sólo la neostigmina da resultado en esas circunstancias. La debilidad y parálisis, que son consecuencias de la disfunción neurológica característica de estas enfermedades, precisa fisioterapia temprana y asistencia respiratoria. Finalmente el desequilibrio fluído inducido por el vómito y disminución de alimento, debido además a una secreción inadecuada de la hormona anti-diurética, precisa una corrección, de manera de restringir la eliminación de líquido a no más de 700 ml. Si ocurrieran otras complicaciones médicas ya sea en casos latentes o en pacientes sintomáticos en ataque, solamente debe hacerse uso de las drogas listadas específicamente en la Tabla V.9.

Tabla V.9.: Medicamentos empleados en el tratamiento de las porfirias agudas

	CATEGORIA DEL MEDICAMENTO	MEDICAMENTO
Tratamientos específicos		Fólico, ácido - Glucosa/ Fructosa - Hematina - Propanolol
Dolor abdominal y dolor en general	Analgésicos y antipiréticos	Aspirina - Buprenorfina - Diamorfina - Dihidrocodeína- Morfina - Paracetamol - Petidina
Vómitos	Antiheméticos	Clorpromazina - Promazina
Hipertensión y Taquicardia	Antihipertensivos	Guanetidina - Mecamilamina - Propanolol
Neurosis, Psicosis, convulsiones y desvanecimientos	Sedantes Tranquilizantes y anticonvulsantes	Clormetiazol - Clorpromazina - Clorazepam - Proclorperazina - Promazina - Trifluorperazina
Constipación	Anticolinesterásicos	Neostigmina - Prostigmina
Otros rasgos clínicos		
I) Infección	Antibióticos	Cefalosporinas - Penicilinas - Gentamicina - Mandelamina
II) Condiciones cardiovasculares	Drogas antiarrítmicas y diuréticos	Atropina - Digital, preparaciones - Disopiramida - Bumetanida - Tiazidas
III) Anestesia	Anestésicos	Bupivacaína - Ciclopropano - Droperidol - Eter - Oxido nitroso - Prilocaína - Propanidid - Procaína - Succinilcolina
IV) Diabetes	Hipoglucemiantes	Insulina
V) Enfermedad tiroidea	Drogas antitiroideas	Metil-uracilo - Propil-tiouracilo
VI) Malaria	Antimaláricos	Primaquina - Quinina
VII) Situación Artrítica	Antiinflamatorios	Aspirina - Colchicina - Flurbiprofeno - Indometacina- Naproxen - Penicilamina
VIII) Reacciones alérgicas	Antihistamínicos	Clorfeniramina - Difenhidramina

V.5.9. REFERENCIAS

- Albers, J.;Robertson, W. & Daube, J. Muscle and Nerve Jul/Ago (1978) 292.
- Allen, S. & Rees, G. Br. J. Anaesth. 52 (1980) 835.
- Anderson, K.; Alvares, A.; Sassa, S. & Kappas, A. Clin. Pharmacol. Ther. 19 (1976) 47.
- Anderson, K.; Bradlow, H.; Sassa, S. & Kappas, A. Am. J. of Med. 66 (1979) 644.
- Anzil, A. & Dozie, S. Acta Neuropathol. 42 (1978) 121.
- Atkinson, R.; Rushman, G. & Lee, J. en: "A Synopsis of Anaesthesia" 8th. Ed. (1977) 730. Bristol. John Wright.
- Atsmon, A.; Blum, I. & Fischl, J. S. Afr. Med. J. 46 (1972) 311.
- Atuk, N.; Owen, J. & Westfall, T. J. Clin. Pharmacol. 15 (1975) 404.
- Barclay, N. Arch. Dis. Childhood 49 (1974) 404.
- Barker, L. & Estes, W. J. Am. Med. Ass. 59 (1912) 718.
- Barnes, R.; Jones, M.; Jones, O. & Porra, R. Biochem. J. 124 (1971) 633.
- Batlle, A.; Magnin, P. & Wider, A. en: "Porfirinas y Porfirias. Etiopatogenia, Clínica y Tratamiento" (1981) EUDEBA.
- Batlle, A.; Parera, V.; Stella, A.; Wider, E.; Navarret, E.; Cotone, V.; Senatores, V.; Saks, G. & Pagano, T. Prensa Médica Arg. 71 (1984) 299.
- Batlle, A. & Rossetti, M. Int. J. Biochem. 8 (1977) 251.
- Beal, M.; Atuk, N.; Westfall, T. & Turner, S. J. Clin. Invest. 60 (1977) 1141.
- Beattie, A.; Moore, M. & Goldberg, A. Brit. Med. J. 3 (1973) 257.
- Blekkenhorst, G.; Harrison, G.; Cook, E. & Eales, L. Br. J. Anaesth. 52 (1980) 759.
- Bloomer, J.; Berk, P. & Bonkowsky, H. N. Engl. J. Med. 284 (1971) 17.
- Blum, I. & Atsmon, A. S. Afr. Med. J. 50 (1976) 898.

- Bonkowsky, H.; Collins, A.; Doherty, J. & Tschudy, D.
Biochim. Biophys. Acta 320 (1973) 561.
- Bonkowsky, H.; Magnussen, C.; Collins, A.; Doherty, J.;
Hess, R. & Tschudy, D. Metabolism 25 (1976) 405.
- Bonkowsky, H. & Schady, W. Seminars in liver diseases 2
(1982) 108.
- Bonkowsky, H.; Sinclair, P.; Emery, S. & Sinclair, J.
Neurology 30 (1980) 588.
- Bonkowsky, H.; Tschudy, D. & Collins, A. Proc. Natl. Acad. Sci.
USA 68 (1971) 2725.
- Bornstein, J.; Pickett, J. & Diamond, I. Ann. Neurol. 5
(1979) 94.
- Bosch, E.; Pierach, C. & Bossenmaier, I. Neurology 27
(1977) 1053.
- Brennan, M. & Cantrill, R. Nature 280 (1979) 514.
- Brennan, M.; Cantrill, R. & Kramer, S. Int. J. Biochem. 12
(1980) 833.
- Brodie, M.; Goldberg, A.; Beastall, G.; Yeo, P. & Ratcliffe,
J. J. of Endocrinol. (Proc). 75 (1977 a) 20P.
- Brodie, M.; Moore, M.; Thompson, G. & Goldberg, A. Brit. J.
Obstet Gyn. 84 (1977b) 726.
- Brodie, M.; Moore, M.; Thompson, G. & Goldberg, A. Clin. Sci
Mol. Med. 53 (1977 c) 365.
- Cahil, G. Jr. en: "Peptide Hormone" (1976) 85. (Ed. J. Par-
son). University Park Press. Baltimore.
- Case Records of the Massachusetts General Hospital (Case
41-1975) N. Engl. J. Med. 293 (1975) 817.
- Cavanagh, J. & Mellick, R. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry
28 (1965) 320.
- Cavanagh, J. & Ridley, A. Lancet 2 (1967) 1023.
- Correia, M.; Farrell, G.; Schmid, R. Ortiz de Montellano, P.;
Yost, G. & Mico, B. J. Biol. Chem. 254 (1979) 15.
- Cutler, M.; Moore, M. & Dick, J. Eur. J. Pharmacol. 64
(1980) 221.

- Churchill-Davidson, H. en: "A practice of Anaesthesia" (1978) 4th ed. p. 941. London:Lloyd-Luke.
- De Matteis, F. & Aldridge, W. en: "Heme and Hemeproteins" (1978). Springer Verlag, Berlin. Heidelberg. New York.
- De Matteis, F. & Rimington, C. Lancet 1 (1962) 1332.
- De Matteis, F.; Zetterlund, P. & Wetterberg, L. Biochem. J. 196 (1981) 811.
- Denney-Brown, D. & Sciarra, D. Brain 68 (1945) 1.
- Diehter, H.; Taddeini, L.; Lin, S. & Ayala, G. Brain Res. 126 (1977) 189.
- Doenecker, A.; Penn, L. & Budhlall, A. Arch. Intern. Med. 140 (1980) 988.
- Doss, M.; von Tiepermann, R.; Schneider, J. & Schmid, H. Kin. Wochenschr. 57 (1979) 1123.
- Doss, M.; & Verspohl, F. Klin. Wochenschr. 59 (1981) 727.
- Douer, D.; Weinberger, A.; Pinkhas, J. & Atsmon, A. J. Ann. Ass. 240 (1978) 766.
- Drury, R. J. Pathol. Bacteriol. 71 (1956) 511.
- Eales, L. & Linder, G. S. Afr. Med. J. 36 (1962) 284.
- Epstein, O.; Schoenfeld, N.; Greenblat, Y.; Lahau, M. & Atsmon, A. Biochem. Pharmacol. 31 (1982) 485.
- Erbsloh, W. Dtsch. Z. Nervenheilk 23 (1903) 197.
- Exton, J. & Park, C. en: "Handbook of Physiology" 1 (1972) p. 437. (Eds. R. Greep y E. Astwood). Am. Phys. Soc.; Washington. D.C.
- Farrell, G. & Correia, M. J. Biol. Chem. 255 (1980) 10128.
- Feldman, D.; Levere, R. & Lieberman, J. Trans. Am. Neurol. Assoc. 93 (1968) 206.
- Feldman, D.; Levere, R.; Lieberman, J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 68 (1971) 383.
- Felscher, B. & Redeker, A. Medicine 40 (1967) 217.
- Fischer, R.; Marks, G. & Stephens, J. Science 197 (1977) 659.
- Fischer, P.; Stephens, J. & Marks, G. Mol. Pharmacol. 14 (1978) 717.

- Flugel, K. & Druschky, K. J. Neurol. 214 (1977) 267.
- Forrest, R. Journal of the Royal Society of Medicine 76 (1983) 800.
- Forrest, R. & Öberg, K. Transactions of the Sweedish Medical Society 91 (1982) 157.
- Gajdos, A. & Gajdos-Török, M. Biochem. M. 2 (1969) 372.
- Gajdos, A. & Gajdos-Török, M. en: "Porphyrines et porphyries. Biochimie et clinique" (1969) Paris. Masson.
- Gajdos, A. & Gajdos-Török, M. Comptes Rend. Soc. Biol. 163 (1981) 848.
- Ganda, C.; Joshi, P. & Kramer, S. S. A. Medical Journal 14 (1981) 789.
- Garcin, R. & Lapresle, J. Sem. Hosp. Paris 26 (1950) 3404.
- Garrod, A. Lancet ii, I (1980) 214.
- Garrod, A. en: "Inborn errors of metabolism" 2nd. Ed. (1923) Frowde (London: Hodder y Stoughton).
- Gates, R. en: "Metabolic defects and derangements in Human genetics" (1946) 529. New York. Mc Millan Co.
- Gendler, P.; Duhan, H. & Rapoport, H. Clin. Chem. 24 (1978) 230.
- Gibson, J. & Goldberg, A. J. Pathol. Bacteriol. 71 (1956) 495.
- Gibson, J. & Goldberg, A. Clin. Sci. 38 (1970) 63.
- Goldberg, A. Quart. J. Med. N. S. 28 (1959) 183.
- Goldberg, A. Life Science 17 (1974) 1747.
- Goldberg, A. & Moore, M. Clinics in Hematology 9 (1980) 225.
- Goldberg, A.; Moore, M.; Mc Coll, K. & Brodie, M. en: "Oxford Textbook of Medicine" (1982) Ed. J. Ledingham, D. Warrell y D. Weatherall).
- Goldberg, A. & Rimington, C. en: "Diseases of porphyrin metabolism" (1962) Springfield, Illinois.
- Gorehein, A. Clin. Sci. 58 (1980) 469.
- Granick, S. J. Biol. Chem. 241 (1966 a) 1359.
- Granick, S. J. Biol. Chem. 241 (1966 b) 4587.
- Granick, S. & Kappas, A. J. Biol. Chem. 242 (1967) 4587.
- Hamfelt, A. & Wetterberg, L. Lancet 1 (1968) 50.

- Hamfelt, A. & Wetterberg, L. Ann. N. Y. Acad. Sci. 166 (1969) 361.
- Hellman, E.; Tschudy, D.; Robbins, J. & Rall, J. J. Clin. Endocr. Metab. 23 (1963) 1185.
- Herbert, V. & Zaluski, R. Fed. Proc. Am. Soc. Exp. Biol. 20 (1961) 453.
- Herbert, V. & Zaluski, R. J. Clin. Invest. 41 (1962) 1263.
- Hierons, R. Brain 80 (1957) 176.
- Hollander, C.; Scottk, R.; Tschudy, D.; Perlroth, M.; Waxman, A. & Sterling, K. New England J. Med. 277 (1967) 995.
- Irvine, D. J. Neuropsychiatry 2 (1961) 292.
- Irvine, D.; Bayne, W.; Miyashita, H. & Majer, J. Nature 224 (1969) 811.
- Ishii, D. & Maniatis, G. Nature 274 (1978) 372.
- Jacobsen, S.; Rapoport, H. & Ellman, G. Biol. Psychiatry 10 (1975) 91.
- Jeelani Dhar, G.; Bossenmaier, I.; Petryka, Z.; Cardinal, B. & Watson, C. Ann. of Int. Med. 83 (1975) 20.
- Jeelani Dhar, G.; Bossenmaier, I.; Cardinal, R.; Petryka, Z. & Watson, C. Acta Med. Scand. 203 (1978) 437.
- Juknat de Gernalnik, A.; Rossetti, M. & Batlle, A. Int. J. Biochem. 13 (1981) 343.
- Jusić, A.; Sostarko, M. & Majić, D. Eur. Neurol. 14 (1976) 294.
- Kansky, A. & Bercic, M. J. Clin. Chem. Biochem. 16 (1978) 48.
- Kappas, A.; Sassa, S.; Granick, S. & Bradlow, L. en: "Brain dysfunction in metabolic disorders" (1974) (Ed. F. Plum.
- Kappas, A.; Song, C.; Levere, R.; Jackson, R. & Granick, S. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 61 (1968) 509.
- Katz, J. & Kadis, L. en: "Anaesthesia and Uncommon diseases" (1973) p. 10. Philadelphia W. Saunders.
- Kostrzewska, E. & Gregor, A. Anesthesiology 49 (1978) 376.
- Kostrzewska, E. & Gregor, A. The Lancet 1 (1982) 1354.
- Kotova, N.; Tscrefman, A.; Skkuro, B. & Zakkarchenko, P. Sovetskaya Meditsina 8 (1980) 113.

- Kramer, S.; Viljoen, D.; Becker, D. & Metz, J. S. Afr. J. Lab. Clin. Med. 17 (1971) 103.
- Kramer, S.; Viljoen, E.; Meyer, A.; Hetsi, B. J. Haemat. 11 (1965) 666.
- Laborit, H. Aggressologie 19 (1978) 353.
- Lamon, J.; Ernnet, M.; Frykholm, B. & Tschudy, D. Lancet 2 (1978) 492.
- Lamon, J.; Frykholm, B. & Hess, R. Medicine 58 (1979) 252.
- Lascelles, J. J. Gen. Microbiol. 23 (1960) 487.
- Li, T. & Vallee, B. en: "Modern nutrition in health and disease" 6th ed. (1980) (Eds. R. Goodhart y M. Shils). Lea y Febiger, Philadelphia.
- Loots, J.; Becker, D. & Meyer, B. J. Neural. Transm. 36 (1975) 71.
- Marks, G. en: "Heme and Hemoproteins" (1978) 201. (Eds. F. De Matteis y W. Aldridge). Springer-Verlag. Berlín.
- Marks, G.; Stephens, J.; Fischer, W. & Morgan, R. Molec. cellular Biochemistry 25 (1979) 111.
- Marver, W.; Collins, A.; Tschudy, D. & Recheigl, M. Jr. J. Biol. Chem. 241 (1966) 4323.
- Mason, V.; Courville, C. & Ziskind, E. Medicine 12 (1933) 355.
- Maytham, D. & Eales, L. S. Afr. Med. J. 45 (1971) 99.
- Mc Coll, K. & Moore, M. Scott. Med. J. 26 (1981) 32.
- Mc Coll, K.; Moore, M.; Thompson, G. & Goldberg, A. The Lancet 20/enero (1979) 133.
- Mc Coll, K.; Wallace, A.; Moore, M.; Thompson, G. & Goldberg, A. Clin. Sci. 62 (1982) 183.
- Meer, F.; Downing, J. & Coleman, A. Br. J. Anaesth. 4 (1973) 191.
- Meiler, E.; Rosengarten, H.; Friedhoff, A.; Stebbins, R. & Silber, R. Science 187 (1975) 171.
- Miyagi, K.; Cardinal, R.; Bossenmaier, I. & Watson, C. J. Lab. Clin. Med. 78 (1971) 683.
- Moore, M. Endocrinología clínica y metabolismo 5 (1983) 7.

- Moore, M; Mc Coll, K. & Goldberg, A. Trends. in Pharmacol. Sci. 2 (1981) 330.
- Morris, D.; Dudley, M. & Pearson, R. Ann. Int. Med. 95 (1981) 700.
- Müller, W. & Snyder, S. Ann. Neurol. 2 (1977) 340.
- Mustajoki, P. & Seppäläinen, A. Br. Med. J. 2 (1975) 310.
- Mustajoki, P.; Tenhunen, R.; Tokola, O. & Gothoni, G. XX Congreso Soc. Int. Hematología. Set. (1984) Bs.As. Argentina. Abs. 963.
- Nagler, W. Arch. Phys. Med. Rehabil. 52 (1971) 426.
- Nicoll, R. Life Sci. 19 (1976) 521.
- Nielson, I.; Chaykowski, F.; Singer, M. & Marks, G. Biochem. Pharmacol. 28 (1979) 3589.
- Parera, V; Stella, A.; Wider de Xifra, E.; Fukuda, H. & Batlle, A. Int. J. Biochem. 12 (1980) 947.
- Parikh, R. & Moore, M. Br. J. Anaesth. 47 (1975) 907.
- Parikh, R. & Moore, M. Br. J. Anaesth. 50 (1978) 1099.
- Percy, V. & Shanley, B. S. Afr. Med.J. 52 (1977) 219.
- Percy, V. & Shanley, B. J. Neurochem. 33 (1979) 1267.
- Perlroth, M.; Marver, H. & Tschudy, D. J. Amer. Med. Ass. 194 (1965) 1037.
- Perlroth, M.; Tschudy, D.; Marver, H.; Berard, C.; Ziegel, R. ; Rechcigl, M. & Collins, A. Am. J. Med. 41 (1966) 149.
- Perlroth, M.; Tschudy, D.; Ratner, A.; Spaur, W. & Redeker, A. Metabolism 17 (1968) 571.
- Perlroth, M.; Tschudy, D.; Waxman, A. & Odell, W. Metabolism 16 (1967) 87.
- Peters, H. en: "Metal binding in Medicine" (1960) (Eds. M. Seven y L. Johnson) J. Lippincott, Philadelphia.
- Peters, H.; Cripps, D. & Reese, H. en: "Review of Neurobiology" 16 (1974) (Eds. C. Pfeiffer y J. Smithies) Ac. Press New York.
- Peters, H.; Eichman, P. & Reese, H. Neurology 8 (1958) 621.
- Peters, H.; Woods, S.; Eichman, P. & Reese, H. Ann. Int. Med. 47 (1957) 889.

- Petryka, Z.; Dhar, G. & Bossenmaier, I. en: "Porphyrins in Human Diseases" (1976) 259. (Ed. M. Doss) S. Karger, Basel.
- Pierach, C. Seminars in liver disease 2 (1982) 125.
- Pierach, C.; Bossenmaier, I.; Cardinal, R. Weimer, M. & Watson, C. Klin. Wochenschr. 58 (1980) 829.
- Pierach, C.; Bossenmaier, I.; Cardinal, R. & Watson, C. Hepatology 1 (1981) 536.
- Pierach, C.; Guidon, L. & Petryka, Z. Experientia 33 (1977) 873.
- Pilkis, S.; Claus, T.; Johnson, R. & Park, C. J. Biol. Chem. 250 (1975) 6328.
- Pimstone, N. en: "Modern trends in gastroenterology" (1975) 373. (Ed. A. Read) Buterworth, London.
- Piper, J.; Condie, L. & Tephly, T. Arch. Biochem. Biophys. 159 (1973) 671.
- Piper, W. & Van Lier, R. Mol. Pharmacol. 13 (1977) 1126.
- Poulson, R. Ann. Clin. Res. 8 (1976) 56.
- Price, J.; Brown, R. & Peters, H. Neurology 9 (1959) 456.
- Ranking, J. & Pardington, G. Lancet 2 (1890) 607.
- Redeker, G. & Sterling, R. Arch. Int. Med. 121 (1968) 446.
- Ridley, A. Q. J. Med. 38 (1969) 307.
- Riopelle, R. & Kennedy, J. Can. J. Physiol. Pharmacol. 60 (1982) 707.
- Rizk, S.; Jacobson, J. & Silvay, G. Anesthesiology 46 (1977) 305.
- Roman, W.; Oon, R.; West, R. Lancet 2 (1967) 716.
- Rose, J.; Hellman, E. & Tschudy, D. Metabolism 10 (1961) 514.
- Rossetti, M.; Juknat de Geralnik, A.; Kotler, M.; Fumagalli, S. & Battle, A. Int. J. Biochem. 12 (1980) 761.
- Russell, U.; Samm, M. & Taljard, J. Neurochemical Research 8 (1983) 1407.
- Saint, E. & Curnow, D. Lancet 1 (1962) 133.

- Sauberblich, H. & Canham, J. en: "Modern nutrition in Health and disease" (1980) 6th Ed. (Eds. R. Goodhart y M. Shils) (Lea y Febiger, Philadelphia.
- Schley, G.; Bock, K.; Hocevar, V.; Merguet, P.; Rausch-Strogmann, J.; Schroder, R. & Schumann, H. Klin. Wochr. 48 (1) (1970) 36.
- Schmid, R. & Schwartz, S. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 81 (1952) 685.
- Schoenfeld, N.; Epstein, O. & Atsmon, A. Biochim. and Biophys. Acta 444 (1976) 286.
- Seitz, J.; Muller, M.; Nordmeyer, P.; Krone, W. & Tarnowski, W. Endocrinology 99 (1976) 1313.
- Shanley, B.; Neethling, A.; Percy, V. & Carstens, M. S. Afr. J. Med. 49 (1975) 576.
- Sinclair, P. & Granick, S. Ann. Clin. Res. 8 (1976) 250.
- Smith, S. & El-Far, M. Int. J. Biochem. 12 (1980) 979.
- Song, C.; Bonkowsky, H. & Tschudy, D. Clin. Pharmacol. Ther. 15 (1974) 431.
- Srivastava, G.; Brooker, J.; May, B. & Elliot, W. Biochem. Int. 1 (1980) 64.
- Stein, J.; Curl, F.; Valsamis, M. & Tschudy, D. Amer. J. Med. 53 (1972) 784.
- Stein, J. & Tschudy, D. Medicine 49 (1970) 1.
- Stokvis, B. Med. Tydschr. Geneesk 2R 25 (2) (1889) 409.
- Stokvis, B. Z. Klin. Med. 28 (1895) 1.
- Stone, O. & Munson, E. Br. J. Anaesth. 51 (1979) 809.
- Strand, L.; Felscher, B.; Redecker, A. & Marver, H. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 67 (1970) 1315.
- Sweeney, V.; Patak, M. & Asbury, A. Brain 93 (1970) 369.
- Ten Eyck, F.; Martin, W. & Kernohan, J. Proc. Staff. Meet. Mayo Clin. 36 (1961) 409.
- Tenhunen, R. ; Marver, H. & Schmid, R. J. Lab. Clin. Med. 75 (1970) 410.
- Tenhunen, R.; Salmi, M. ; Tokola, O.; Linden, I. & Gothoni, G. XX Congreso de la Soc. Int. de Hematología, Set. (1984). Bs.As. Argentina Abs. 962.

- Tephly, T. en: "Porphyrin in Human Diseases", Report of the discussions. (1975) 128. (Ed. M. Doss y P. Naurocki).
- Thomas, P. Proc. R. Soc. Med. 64 (1971) 295.
- Tschudy, D. en: "Heme and Hemoproteins" (1978) p. 225. (Eds. F. De Matteis y W. Aldridge) Springer-Verlag, Berlín.
- Tschudy, D.; Perlroth, M.; Marver, M.; Collins, A.; Hunter, G. Jr. & Rechcigl, M. Jr. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 53 (1965) 841.
- Tschudy, D.; Waxman, A. & Collins, A. PNAS (US) 58 (1967) 1944.
- Tschudy, D.; Welland, F.; Collins, A. & Hunter, G. Metabolism 13 (1964) 396.
- Unger, R. Isr. J. Med. Sci. 8 (1972) 252.
- Vacek, J.; Martasek, V. & Kordac, V. XVth Int. Cong. Int. Med. Praha, Abstracts (1982) 560.
- Vickers, M. en: "Medicine for Anaesthetists" (1977) 304 (Ed. M. Vickers) Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Vincet, F.; Sadowsky, C.; Bonkowsky, H. & Ochoa, J. Fourth Int. Congress of Neuromuscular Diseases (Abst.) (1978) 495.
- Wakayama, Y.; Muroga, T. & Hibino, R. Clin. Neuro. (Tokyo) 15 (1975) 333.
- Waldenström, J. Acta Med. Scand. (Suppl. 82) (1937) 120.
- Waldenström, J. Am. J. Med. 22 (1957) 758.
- Waldenström, J. & Haeger-Arönsen. Progr. Med. Gen. 5 (1967) 58.
- Watson, C.; Pierach, L.; Bossenmaier, I. & Cardinale, R. Adv. Int. Med. 23 (1978) 265.
- Welland, F.; Hellman, E.; Gaddis, E.; Collins, A.; Hunter, G. & Tschudy, D. Metabolism 13 (1964) 232.
- Wetterberg, L. en: "Porphyrins in Human Diseases" 11 (1976) 195. (Ed. M. Doss) Basel: Karger.
- White, A.; Handler, P. & Smith, S. en: "Principles of Biochemistry" (1978) 6th Ed. Mc Graw-Hill, New York.
- Wider de Xifra, E.; Batlle, A.; Stella, A. & Malamud, S. Int. J. Biochem. 12 (1980) 819.

- Wochner, R.; Spilberg, I.; Iio, A. N. Engl. J. Med. 290 (1974) 822.
- Zimmerman, E. & Lovelace, R. Trans. Am. Neurol. Assoc. 93 (1968) 294.
- Zimmerman, T.; Mc Millan, J. & Watson, C. Arch. Int. Med. 118 (1966) 229.

V.6. PORFIRIA VARIEGATA

La Porfiria Variegata (PV) es una de las formas hereditarias de las porfirias hepáticas. Se transmite con carácter autosómico dominante y los síntomas clínicos incluyen ataques agudos de dolores abdominales, manifestaciones neuropsiquiátricas y/o lesiones fotocutáneas. La principal característica bioquímica es una continua excreción de grandes cantidades de Protoporphyrinogen y en menor proporción, coproporphyrinas en heces; su diagnóstico diferencial puede depender del análisis de las porfirinas fecales (Meyer y Schmid, 1978).

V.6.1. Historia

El cuadro clínico y bioquímico de la PV fue descrito por primera vez por Van der Bergh y Grotepass en 1937, y desde entonces el número de casos se ha incrementado significativamente (Mustajoki, 1978).

A la Porfiria Variegata también se la conoce como Protocoproporfiria, Porfiria Mixta o Porfiria Genética Sudafricana, aunque el término Variegata propuesto por Dean y Barnes en 1959 es el más aceptado ya que refleja la variabilidad de los síntomas clínicos y características bioquímicas de esta enfermedad.

La PV es llamativamente común entre la población blanca de Sudáfrica. Son interesantes los estudios realizados por Dean y Barnes (1955, 1958), Dean (1971) y Eales y col. (1975), los que demuestran que la mayoría de los sujetos afectados por esta enfermedad descienden de uno de los primeros colonos holandeses de Ciudad del Cabo radicado en 1680. Es interesante mencionar que Macalpine y col. (1968) llegaron a establecer que la enfermedad mental del Rey Jorge III se debía a ataques agudos de PV, y lograron determinar que el desorden genético provenía de la Reina María de Escocia y que, además, muchos miembros de las casas reales de Stuart, Hannover y Prusia durante los últimos 400 años habían sufrido ataques similares.

V.6.2. Herencia, distribución e incidencia

Como ya se ha comentado, esta porfiria se hereda de una manera autosómica dominante. La mayor incidencia mundial se encuentra en Sudáfrica, donde se estima en 10.000 o más el número de portadores del gen con una incidencia entre los pobladores blancos de 3/1000. Es notable que hasta nuestros días no se ha encontrado ningún caso de PV entre la población negra de ascendencia pura (Day y Eales, 1982). También en Holanda se han identificado casos de PV (Mustajoki, 1978); si bien no se ha establecido una conexión directa entre las poblaciones porfíricas de Holanda y Sudáfrica (Dean y Barnes, 1955; 1958; Dean, 1971; Eales y col., 1975). Los casos de PV provenientes de otras partes del mundo no son tan frecuentes como en Sudáfrica, correspondiendo la mayoría a Inglaterra, EEUU, Finlandia, Francia, Alemania, y otros países europeos (Van der Bergh, 1937; Holti, 1958; Woods y col., 1958; Baxter y Permo-wicz, 1967; Levene, 1968; McKenzie y Acharya, 1972; Freinkel y Ashman, 1974; Fowler y Ward, 1975; Wechsler, 1975; Mustajoki y Koskelo, 1976; Van der Sar, 1976; Fromke y col., 1978; Eales y col., 1980; Westerhof y col., 1981) y en menor proporción en la India (Sorensen y With, 1971; Handa y col., 1975), China (Tu y col., 1971) y Argentina (Parera y col., 1984).

En nuestro país es difícil determinar la cifra de personas afectadas de PV, pero en los últimos 7 años, sólo a nuestro Centro han llegado más de 10 pacientes claramente diagnosticados como PV.

V.6.3. Sintomatología

Los pacientes con PV pueden presentar lesiones cutáneas o ataques agudos, o a veces ambas sintomatologías simultáneamente, mientras que los denominados casos latentes pueden permanecer asintomáticos durante toda la vida.

En cuanto a la afección cutánea, el signo más característico es la excesiva fragilidad de la piel en las zonas expuestas al sol, tales como dorso de manos, rostro y cuello y con menos frecuencia en brazos. Un mínimo traumatismo produce la separación entre dermis y epidermis dando lugar a la formación de una bulla y, a menudo, erosiones. Estas lesiones gene-

ralmente cursan lentamente y suelen producir escaras pigmentadas y más raramente, depigmentadas. El efecto combinado de repetidos traumatismos y la exposición solar continuada pueden causar cambios pseudoescleromatosos progresivos en manos y dedos y, menos frecuentemente en otras zonas, mientras que la hipertrichosis es bastante común en cejas y regiones temporales. Los pacientes pueden presentar fotosensibilidad (Runge y Watson, 1962; Gordon, 1963; Rimington y col., 1967; Levene, 1968; Mustajoki y Koskelo, 1976). La fotosensibilidad aguda suele estar además acompañada por alteración de la función hepática (Day y Eales, 1982). Se ha observado empeoramiento de las lesiones cutáneas en mujeres que tomaban anticonceptivos orales (Dean, 1965; Baxter y Permowicz, 1967; McKenzie y Archarya, 1972; Fowler y Ward, 1975), o en embarazadas (Holtí y col., 1958; Barnes y col., 1965; Freinkel y Ashman, 1974; Hana y col., 1975).

Es interesante destacar que la severidad de los signos dermatológicos en estos porfíricos varía con la localización geográfica; tanto es así que en Sudáfrica el 80% de los pacientes presentan fragilidad cutánea severa (Eales, 1971) mientras que en Finlandia sólo en el 50% de la población porfírica se observa fragilidad en dorso de manos (Mustajoki y Koskelo, 1976; Romeo, 1977). Esta diferencia en la severidad cutánea se debe muy probablemente a factores ambientales (Waldenström y Haeger-Arönsen, 1963). Se ha demostrado que la irradiación solar máxima, calculada teóricamente es, en Finlandia un 10% menor que en Sudáfrica (Mustajoki y Koskelo, 1976). Además, la radiación solar se prolonga durante todo el año en Sudáfrica, mientras que sólo permanece unos pocos meses en Finlandia. Por lo tanto, las lesiones cutáneas más pronunciadas observadas en Sudáfrica se deben a la exposición crónica a la luz solar (Burnett y Pattak, 1963; Mustajoki y Koskelo, 1976).

La PV, como ya dijimos tiene muchas características en común con las otras formas de porfirias hepáticas agudas. El ataque agudo es una de ellas, siendo éste típicamente intermitente y con frecuencia precipitado por varias drogas y ciertos otros factores (Capítulo V. 5. PAI).

Las mujeres que padecen de PV sufren más frecuentemente ataques agudos que los hombres, en una proporción aproximada de 3:1; por otro lado más del 70% de los ataques agudos se pre

sentan en pacientes cuyas edades oscilan entre 20 y 40 años (Day y Eales, 1982).

V.6.4. Características bioquímicas

V.6.4.1. Patrón de excreción

Como ya se ha indicado, el ataque agudo en los pacientes con PV es similar al que presentan las otras porfirias hepáticas agudas, con síntomas abdominales y psiquiátricos precipitados por agentes exógenos o metabólicos. Sin embargo, la PV se caracteriza por un patrón de excreción típico y único de porfirinas y precursores (Tabla V.10.).

Tabla V.10.: *Porfirinas y precursores excretados en las distintas fases de la Porphiria Variegata*

P.V. FASE	Nº DE PACIENTES	EDAD (Promedio)	Z MUJERES	O R I N A					H E C E S			
				ALA	PBG	URO	FIRIA	COPRO	FIRIA	ISOCOPRO	COPRO	PROTO
f_a	10	26	70	41,70	65,70	16.685	150,8	1.841,6	1,8	19,6	477,4	1.596,8
f_r	71	43	61	4,01	2,17	39,2	3,4	194,0	1,1	9,3	195,9	436,8
Normal				4	2	12,2	2,0	17-152	1,0	1,0	9-295	18,5-111

Las porfirinas urinarias se expresan en µg/24 h; ALA y PBG en mg/24 h y las porfirinas fecales en µg/g seco (Day y Eales, 1982). f_a : fase aguda; f_r : remisión.

En la PV, durante la fase aguda tanto los niveles urinarios de precursores como los de Uro y Coproporfirina se encuentran marcadamente elevados (Tabla V.10.), mientras que en remisión el patrón de excreción no difiere del observado en sujetos normales.

Los pacientes con PV, tanto en fase aguda como en remisión presentan grandes cantidades de Protoporfirina e incrementos menores de Coproporfirina en heces (Dean y Barnes, 1959; Eales y col., 1963, 1966 a y b; Sweeney, 1963; Herbert, 1966;

Mustajoki, 1978; Husquinet y col., 1978). Este patrón de excreción de porfirinas en materia fecal es característico de PV y distinto del observado en CPH o en PCT, donde si bien es alto el contenido total de porfirinas fecales, el patrón es distinto; en el caso de la CPH es mayor el contenido de Coproporfirina que de Protoporfirina, mientras que en la PCT se encuentra elevado el contenido de la Isocoproporfirina fecal (Tabla V.10.).

Es interesante destacar que durante la remisión, además de estar alterada la concentración y el patrón de excreción de porfirinas fecales, también lo están las porfirinas plasmáticas, predominando un complejo formado por Coproporfirina y colesterol (Day y col., 1978) junto con pequeñas cantidades de Protoporfirina y trazas de porfirinas octa y penta carboxiladas. Además en el plasma de pacientes con PV suelen encontrarse cantidades considerables de porfirinas, llamadas porfirinas X, que no se extraen por los métodos comunes, sino que permanecen ligadas a una fracción proteica (Day y col., 1978; Longas y Poh-Fitzpatrick, 1982). Esta fracción de porfirinas X presenta además, un espectro de emisión de fluorescencia característico (Poh-Fitzpatrick, 1980).

La fracción de complejos hidrofílicos porfirinas-péptidos insolubles en éter, conocida como fracción X-porfirina, presentes en bilis, heces y también plasma de pacientes con PV fue descubierta por Rimington y col. en 1968. Posteriormente se detectó esta fracción en pacientes con PCT y ocasionalmente en pacientes con PAI (Eales y Grosser, 1971; Moore y col., 1972; Elder y col., 1974). De todos modos, se supone que estas fracciones son distintas (Elder y col., 1974).

V.6.4.2. Defecto enzimático primario

El exceso de porfirinas eliminadas por los pacientes con Porfiria Variegata indican un bloqueo parcial en las últimas etapas del camino biosintético del hemo (Figura V.1.).

Dado que Becker y col. (1977) y Viljoen y col. (1979) observaron una disminución del 50% en la actividad de la Ferroquelatasa proveniente de GR y fibroblastos de pacientes con PV, se supuso inicialmente que el defecto enzimático de esta por-

firia estaría a nivel de la Ferroquelatasa a pesar de que tanto en músculo esquelético (Pimstone y col., 1973) como en leucocitos humanos (Brodie y col., 1977) los niveles de dicha enzima se mantenían dentro de los valores normales.

De gran importancia fueron los estudios de Brenner y Bloomer (1980) y de Deybach y col. (1981), quienes encontraron una deficiencia del 50% en la actividad de la Protoporfirinógeno oxidasa de fibroblastos y linfocitos humanos, con una actividad normal de Ferroquelatasa. Estas evidencias confirmaron que la sobreproducción de protoporfirinógeno constituye el defecto metabólico primario, mientras que, al igual que en las otras porfirias agudas, existe un aumento secundario del ALA-S hepática (Dowdle y col., 1967).

El ataque agudo se acompaña casi invariablemente con alteraciones electrolíticas y renales, observándose hiponatremia e hipocalemia (Day y Eales, 1982); o, con alcalosis y más frecuentemente con azotemia (Day y Eales, 1982) y disminución en el clearance de creatinina (Eales y col., 1980). Además se encontró una elevación en el contenido de Fe sérico (Bothwell y col., 1960) e incrementos en el nivel de yodo unido a proteínas y de colesterol sérico (Mustajoki y Koskelo, 1976). En general estas modificaciones en los parámetros bioquímicos coinciden con los síntomas más severos del ataque agudo porfírico, mientras que en remisión dichos niveles se mantienen dentro de los valores normales.

Dado que las porfirias no son enfermedades tan conocidas, no es de esperar que existan muchos casos en los cuales coexistan dos tipos de porfiria en una misma persona o familia. Sin embargo, se ha logrado identificar la presencia simultánea de dos tipos de porfiria en un cierto número de pacientes o familias.

El primer caso publicado fue el de una familia diagnosticada como PV, en la cual dos de sus integrantes eran portadores de una PCT (Watson y col., 1975, 1976). Estos investigadores propusieron que la coexistencia de los dos tipos de porfiria se debía a una heterogeneidad genética. Posteriormente, del estudio de 106 pacientes sudafricanos con PV se comprobó que 25 de ellos eran, también, portadores de PCT (Day y col., 1982). Recientemente, en nuestro Centro se realizó un amplio

estudio en 7 miembros de una familia en la cual el propósito era una PV, estableciéndose que 5 miembros de ella eran portadores de una PAI (Parera y col., 1984). Esto indicaría que en esta familia coexisten los genes para PV y para PAI.

V.6.5. Aparición de la enfermedad

Generalmente, la Porfiria Variegata se manifiesta clínica o bioquímicamente después de la pubertad. Sin embargo, se conocen algunas excepciones, siendo una de ellas el caso de un niño de 5 años presentado por Kramer (1980) y otro, el de una niña de 4 años, estudiado en nuestro Centro. En ambos niños, la PV se desencadenó luego de un tratamiento prolongado con compuestos identificados como porfirinogénicos con la aparición de los síntomas agudos y cutáneos.

V.6.6. Tratamiento

Respecto al tratamiento se deben tener en cuenta los elementos señalados para la PAI (Capítulo V.5) y para la PCT (Capítulo V.8) con la especial precaución en cuanto al uso de drogas desencadenantes y una correcta protección solar.

Una dieta rica en hidratos de carbono ha demostrado ser efectiva en el tratamiento de pacientes con PV, recomendándose una ingesta tan elevada como 500 g/día y no menor de 200 g/día de hidratos de carbono (Perlroth y col., 1968).

Como en la PAI, se han utilizado β -bloqueantes en la PV, especialmente indicados para combatir la taquicardia y la hipertensión. El propranolol tiene efectos beneficiosos cuando se aplica en pacientes con ataques porfíricos; las dosis aconsejadas son de 600 mg/día (Blum y Atsmon, 1976).

Se ha sugerido que la quelación de las porfirinas circulantes en el organismo producen efectos beneficiosos en los pacientes con PV. Wechsler (1975), luego de obtener resultados negativos con plasmaféresis en un paciente con PV, lo trató con resinas de colestiramina (4 g tres veces por día) obteniendo una brusca normalización del cuadro clínico y bioquímico.

Tu y col. (1971) observaron que la administración dia

ria de 1 g de penicilamina y 50 mg de clorhidrato de piridoxina durante 2 meses, a un paciente con PV, produjo una amplia mejoría clínica y bioquímica con una mayor tolerancia a la exposición solar.

En 1981, Westerhof y col., observaron que la irradiación de la piel con luz de longitud de onda alrededor de los 310 nm, que no excita las porfirinas pero es melanogénica, puede ser beneficiosa en los pacientes con PV. El aumento de pigmentación parece proporcionar una mayor protección frente a la luz de 405 nm que es la más dañina en los pacientes porfíricos. Estos estudios fueron realizados en una paciente con PV y vitiligo (Westerhof y col., 1981).

Recientemente, Zachariae y Cramers (1983) trataron una paciente de 30 años con agentes anticonceptivos que contenían 0,05 mg de etinil estradiol y 2 mg de acetato de ciproterona, como antiandrogénica. El tratamiento se llevó a cabo durante un año, en períodos de 21 días seguidos por 7 días sin medicación; se obtuvo una buena remisión del cuadro agudo y la paciente permaneció sin dolores abdominales durante más de 2 años. Los autores indican que si bien los estrógenos y gestágenos pueden tanto agravar como inducir la remisión en PV, es posible que ellos, además de prevenir la ovulación, estabilicen los esteroides ováricos endógenos a un nivel inferior con la consiguiente mejoría del cuadro clínico y bioquímico.

Finalmente, debemos recordar que la medicina preventiva es el hecho más importante en el manejo a largo plazo de los pacientes con porfirias agudas, incluyendo la Porfiria Variegata.

V.6.7. Referencias

- Barnes, H.; Overton, J. & Sweet, R. Br. J.Dermatol.77 (1965) 130.
- Baxter,D. & Permowicz, S. Arch. Dermatol. 96 (1967) 98.
- Becker,O.; Viljoen, J.; Katz, J. & Kramer, S. Br. J. Haematol. 36 (1977) 171.
- Blum, I. & Atsmon, A. S.Afr. Med. J. 50 (1976) 898.
- Bothwell, T.; Kramer, S.; Jacobs, P. & Barnes, H.S. Afr. J. Med. Sci. 25 (1960) 141.
- Brenner, D. & Bloomer, J. N. Engl. J. Med. 302 (1980) 765.
- Brodie, M.; Moore, M. & Goldberg, A. Lacet 2 (1977) 699.
- Burnett, J. & Pathak, M. New Engl. J. Med. 268 (1963) 1203.
- Day,R.& Eales,L. Endocrinología,Clinica y Metabolismo 5 (1983)34.
- Day, R.; Eales, L. & Meissner, D. N.Engl.J.Med.307 (1982) 36.
- Day, R.; Pimstone, N. & Eales, L. Int.J.Biochem. 9 (1978) 897.
- Dean, G. S. Afr. Med. J. 39 (1965) 278.
- Dean, G. en: "The Porphyrrias" 2nd. Ed. (1971) 1. London. Pitman Medical.
- Dean, G. & Barnes, H. Br. Med. J. 2 (1955) 89.
- Dean, G. & Barnes, H. BR. Med. J. 1 (1958) 298.
- Dean, G. & Barnes, H. South Afr. Med. J. 33 (1959) 246.
- Deybach, J.; de Verneuil, H. & Nordmann, Y. Hum. Genet. 58 (1981) 425.
- Dowdle, E.; Mustard, P. & Eales, L. S.Afr.Med.J. 41 (1967) 1093.
- Eales, L. S. Afr. Med. J. 45 (1971) 120.
- Eales, L.; Day, R. & Blekkenhorst, G. Int. J. Biochem. 12 (1980) 837.
- Eales, L.; Dowdle, E.; Saunders, B. & Sweeney, G. S. Afr. Med. J. 37 (1963) 100.
- Eales, L. & Grosser, Y. S.Afr.J.Lab.Clin.Med. 17 (1971) 160.
- Eales, L.; Grosser, Y. & Sears, W. Ann. N.Y. Acad. Sci. 244 (1975) 441.
- Eales, L.; Dowdle, E.; Levey, M. & Sweeney, G. S. Afr. Med. J. 40 (1966 a) 380.

- Eales, L.; Levey, M. & Sweeney, G. S. Afr. Med. J. 40 (1966 b) 63.
- Elder, G.; Magnus, I.; Handa, F. & Doyle, M. Enzyme 17 (1974) 29.
- Fowler, C. & Ward, J. Br. Med. J. 1 (1975) 663.
- Freinkel, R. & Ashman, M. Arch. Dermatol. 110 (1974) 653.
- Fromke, V.; Bossenmaier, J.; Cardinal, R. & Watson, C. Am. J. Med. 65 (1978) 80.
- Gordon, W. S. Afr. J. Lab. Clin. Med. 9 (1963) 245.
- Handa, F.; Kumar, K. & Kumar, R. Br. J. Dermatol. 92 (1975) 347.
- Herbert, F. Clin. Chim. Acta 13 (1966) 19.
- Holti, G.; Rimington, C.; Tate, B. & Thomas, G. Q.J. Med. 27 (1958) 1.
- Husquinet, H.; Noirfalise, A. & Parent, M. J. Genet. Hum. 26 (1978) 367,.
- Kramer, S. Clin. Dermatol. 9 (1980) 303.
- Levene, G. Proc. R. Soc. Med. 61 (1968) 591.
- Longas, M. & Poh-Fitzpatrick, M. Clin. Chim. Acta 118 (1982) 219.
- Macalpine, I.; Hunter, R. & Rimington, C. Br. Med. J. 1 (1968) 7.
- McKenzie, A. & Acharya, U. Br. J. Dermatol. 86 (1972) 453.
- Meyer, V. & Schmid, S. en : "The metabolic basis of inherited disease" 4th ed. (1978) 1186. (Eds. J. Stanbury, Wingarden, J. & Frederickson, O). Mc Graw Hill, New York.
- Moore, M.; Thompson, G. & Goldberg, A. Clin. Sci. 43 (1972) 299.
- Mustajoki, P. Ann. Intern. Med. 89 (1978) 238.
- Mustajoki, P. & Koskelo, P. Acta Med. Scand. 200 (1976) 171
- Parera, V.; Afonso, S. Navone, N.; Stella, A. & Battle, A.; Aguilar, P.; Mendez, L.; Castagno, J. & Gianantonio, C. Rev Argentina de Dermatología 65 (1984) 68.
- Perlroth, M.; Tschudy, D.; Ratner, A.; Spaur, W. & Redeker, A. Metabolism 17 (1968) 571.

- Pimstone, N.; Blekkenhorst, G. & Eales, L. *Enzyme* 16 (1973) 354.
- Poh-Fitzpatrick, M. *Arch. Dermatol* 116 (1980) 543.
- Rimington, C.; Lockwood, W. & Belcher, R. *Clin. Sci.* 35 (1968) 211.
- Rimington, C.; Magnus, I.; Ryan, E. & Cripps, D. Q. J. Med. 36 (1967) 29.
- Romeo, G. *Hun. Genet.* 39 (1977) 261.
- Runge, W. & Watson, C. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 109 (1962) 809.
- Sorensen, A. & With, T. S. *Afr. J. Lab. Clin. Med.* 17 (1971) 101.
- Sweeney, G. S. *Afr. J. Lab. Clin. Med.* 9 (1983) 182.
- Tu, J.; Blackwell, R. & Feng, Y. *Metabolism.* 20 (1971) 629.
- Van der Sar, A. & Den Ouden, A. *Neth. J. Med.* 19 (1976) 19.
- Van der Bergh, A. & Grotepass, W. *Wien. Klin. Wochenschr.* 50 (1937) 830.
- Viljoen, J.; Cayanis, E.; Becker, D.; Kramer, S.; Dawson, B. & Bernstein, R. *Am. J. Hematol.* 6 (1979) 185.
- Waldenstrom, J. & Haeger-Aronsen, B. *Brit. Med. J.* 2 (1963) 272.
- Watson, C.; Cardinal, R.; Bossenmaier, J. & Petryka, Z. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 72 (1975) 5126.
- Watson, C.; Cardinal, R.; Bossenmaier, I. & Petryka, Z. *Proc. Nat. Acad. Sci.(USA)* 73 (1976) 1323.
- Wechsler, H. *Arch. Dermatol.* 111 (1975) 926.
- Westerhof, W.; Bebbelaar, D.; Cormane, R.; Langelaar, J. & Middelkamp Hup, J. *Acta Dermatol.* 61 (1981) 23.
- Woods, S.; Peters, H. & Johnson, S. *Arch. Dermatol.* 77 (1958) 559.
- Zachariae, H. & Cramers, M. *Dermatologica* 166 (1983) 272.

V.7. COPROPORFIRIA HEREDITARIA

La Coproporfiria hereditaria (CPH) es una porfiria hepática de sintomatología clínica similar a la PAI; con ocasionales manifestaciones cutáneas, caracterizada bioquímicamente por una elevada excreción urinaria y fecal de Coproporfirina III.

La CPH es una de las tres porfirias hepáticas agudas expuestas a complicaciones severas que amenazan con la vida del paciente. A pesar de ello, los ataques agudos en esta enfermedad no son frecuentes e incluso la penetrancia es muy débil (Nordmann y Grandchamp, 1983).

V.7.1. Historia

Dobriner (1936) y Watson y col. (1949) fueron los primeros en describir pacientes asintomáticos que eliminaban gran cantidad de Coproporfirina en orina y heces. En 1955, Berger y Goldberg caracterizaron esta enfermedad con el nombre de Coproporfiria hereditaria, al estudiar 4 casos de CPH en una misma familia suiza. A partir de este momento fueron estudiados cerca de 400 pacientes con CPH de los cuales el 70% eran portadores latentes de la enfermedad (Langhof y col., 1965; Smart y col., 1965; Barnes y Wittaker, 1965; Birchfield y Cowger, 1966; Goldberg y col., 1967; Haeger-Arönsen y col., 1968; Cannon y Turkington, 1968; Dean y col., 1969; Gajdos y col., 1969; Lomholt y With, 1969; Sasaki y col., 1969; Kaufman y Margver, 1970; Mc Entyre y col., 1971; Hunter y col., 1971; Jaeger y col., 1975; Brodie y col., 1977; Doss y col., 1978; Nordmann y Grandchamp, 1983; Batlle y col., 1985).

V.7.2. Herencia, distribución e incidencia

La CPH se transmite como un carácter autosómico dominante que se puede manifestar a cualquier edad ya que hay casos diagnosticados desde el nacimiento (Nordmann y Grandchamp, 1983) hasta los 64 años (Goldberg y col., 1967).

Las mediciones de la actividad de la Coprogen-oxidasa en tejidos de pacientes con CPH muestran una deficiencia del

50% para esta enzima; de acuerdo a ésto, la enfermedad se expresa en el estado heterocigota. Sin embargo, se han encontrado recientemente 4 variantes homocigotas donde la actividad de la Coprogen-oxidasa era menor que el 10% del control normal familiar (Grandchamp y col., 1977, 1980; Nordmann y col., 1983).

La CPH aparentemente no presenta especificidad por la raza ni por las zonas geográficas. Esta enfermedad se presenta en ambos sexos aunque parece existir una mayor incidencia en el sexo femenino (Brodie y col., 1977; Nordmann y Grandchamp, 1983.).

V.7.3. Sintomatología

En el 80% de los casos estudiados los síntomas clínicos son idénticos a los que se producen en el ataque agudo de PAI: dolor abdominal, vómitos, estreñimiento, taquicardia, insomnio. También son frecuentes los síntomas psiquiátricos como el stress, la depresión y la confusión, y ocasionalmente se presentan complicaciones nerviosas como paresia o parálisis.

Aproximadamente el 30% de los pacientes son fotosensibles, presentando lesiones cutáneas, semejantes a las observadas en PCT, es decir, vesículas y ampollas en áreas expuestas que se abren, erosionan y ulceran dando lugar a costras, hiperpigmentación y fragilidad cutánea. A veces, las lesiones cutáneas se presentan como dermatitis eritematosas o pápulas urticariformes en las áreas expuestas a la luz, precedidas en ocasiones, por sensación de quemadura y prurito.

V.7.4. Características bioquímicas

La CPH está caracterizada bioquímicamente por una excreción muy elevada de Coproporfirina III principalmente en heces. Durante la fase aguda hay una excreción aumentada de precursores (ALA y PBG) y porfirinas, principalmente Coproporfirina III en orina. La concentración de porfirinas en sangre es normal.

Como ya se mencionara el defecto genético primario en la CPH es una disminución del 50% con respecto a controles normales en la actividad de la Coproporfirinógeno III oxidasa

(Coprogenasa) (Elder y col., 1976; Brodie y col., 1977; Grandchamp y Nordmann, 1977) (Figura V.1.).

La confirmación de una deficiencia enzimática, específica en CPH es de gran importancia práctica y explica claramente la acumulación y aumentada excreción de Coproporfirina III, la limitación de la concentración del hemo y secundaria activación del ALA-S por de-represión.

V.7.5. Coproporfiria homocigótica

Hasta 1977 el rasgo dominante de las porfirias hepáticas se relacionó con el estado heterocigota de los pacientes; suponiéndose, a priori, que la síntesis deficiente de hemo en pacientes homocigotas sería letal. Es interesante comentar que el estudio de la Coprogenasa en una familia ha permitido (Grandchamp y col., 1977) detectar el primer caso conocido y sumamente raro de un estado homocigota de CPH. Este paciente, ya diagnosticado por el grupo de Gajdos en 1969 como CPH mostraba la actividad de Coprogenasa linfocitaria disminuida en un 98% respecto del valor normal, mientras que en ambos padres estaba reducida en un 50% . Los padres del paciente eran primos hermanos, heterocigotas (Grandchamp y col., 1977). En este caso no se observó anemia lo cual indica que el valor de la Coprogenasa residual fue suficiente como para permitir la biosíntesis del hemo, compensando de esta forma el bloqueo en la vía metabólica (Nordmann y Grandchamp, 1983).

V.7.6. Aparición de la enfermedad

A diferencia de las otras porfirias hepáticas, la mayoría de los portadores pueden llegar a ignorar la enfermedad durante toda la vida, dado que el ataque agudo se produce sólo bajo la inducción de drogas porfirinogénicas. Nunca se observan crisis espontáneas en la CPH. Los episodios agudos suelen precipitarse en ambos sexos, por la acción de ciertos medicamentos: barbitúricos, sulfonamidas, tranquilizantes, anticonvulsivantes.

El índice de mortalidad es más bajo que en PAI. De los 95 pacientes con CPH estudiados por Dean y col., 1969; Jaeger

y col., 1975; Nordmann y Grandchamp, 1983 y Batlle y col., 1985; dos murieron por parálisis respiratoria y otro por septicemia.

V.7.7. Control y tratamiento

El tratamiento del ataque agudo de la CPII es semejante al utilizado en los casos de PAI o de PV (V.5., V.6.).

Dado que no ocurren crisis espontáneas es importante que el paciente realice un tratamiento preventivo. Enfatizamos que se deben evitar las drogas porfirinogénicas, los anticonceptivos, el alcohol, las dietas deficientes, el stress. En consecuencia, desde el punto de vista de la profilaxis y tratamiento es fundamental establecer el diagnóstico preciso, en especial en pacientes asintomáticos en cada familia, mediante la determinación de la actividad de la enzima deficiente, la Coprogenasa.

V.7.8. Referencias

- Barnes, H. & Wittaker, N. Br. Med. J. ii (1965) 1102.
- Batlle, A.; Parera, V.; Stella, A. & Wider, E. IV Congreso Intern. Toxicología (1985) 38.
- Berger, H. & Goldberg, A. Brit. Med. J. ii (1955) 85.
- Birchfield, R. & Cowger, M. Am. J. Dis. Child. 112 (1966) 561.
- Brodie, M.; Thompson, G.; Moore, M.; Beattie, A. & Goldberg, A. Quart. J. Med. 46 (1977) 229.
- Cannon, J. & Turkington, V. Lancet ii (1968) 263.
- Dean, G.; Kramer, S. & Lamb, P. S. Afr. Med. J. 43 (1969) 138.
- Dobriner, K. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 35 (1936) 175.
- Doss, M.; Tiepermann, R. & Verspohl, F. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 16 (1978) 519.
- Elder, G.; Evans, J.; Thomas, N.; Cox, R.; Brodie, M.; Moore, M. & Goldberg, A. Lancet II (1976) 1217.
- Gajdos, A.; Weil, J.; Gajdos-Török, M. & Couprie, A. Rev. Franc. Et. Clin. Biol. 14 (1969) 279.
- Goldberg, A.; Rimington, C. & Lockhead, A. Lancet i (1967) 632.
- Grandchamp, B. & Nordmann, Y. Biochem. Biophys. Res. Commun. 74 (1977) 1089.
- Grandchamp, B.; Phung, N. & Nordmann, Y. Lancet ii (1977) 1348.
- Grandchamp, B.; Deybach, J.; de Verneuil, H. & Nordmann, Y. Biochim. Biophys. Acta 629 (1980) 577.
- Haeger-Arönsen, B.; Stathers, G. & Swahn, G. Ann. Intern. Med. 699 (1968) 221.
- Hunter, J.; Hans, A.; Hope, E.; Beattie, A.; Pertridge, G.; Smith, W. & Goldberg, A. Brit. J. Dermatol. 94 (1971) 301.
- Jaeger, A.; Tempe, J.; Geisler, F.; Nordmann, Y. & Mantz, J. Nouv. Presse Med. 4 (1975) 2783.
- Kaufman, K. & Marver, H. N. Engl. J. Med. 283 (1970) 958.
- Langhof, H.; Franken, E. & Kluge, K. Hautarzt 16 (1965) 101.

- Lomholt, J. & With, T. Acta Med. Scand. 186 (1969) 83.
- Mc Intyre, N.; Pearson, A.; Allan, D.; Craske, S.; West, G.; Moore, M.; Beattie, A.; Paxton, J. & Goldberg, A. Lancet i (1971) 560.
- Nordmann, Y. & Grandchamp, B. Endocrinología Clínica y Metabolismo 5 (1983) 58.
- Nordmann, Y.; Grandchamp, B.; de Verneuil, H.; Phung, L.; Cartigny, B. & Fontaine, G. J. Clin. Invest. 72 (1983) 1139.
- Sasaki, H.; Kaneko, K. & Tsuneyama, H. Acta Med. Biol. (Niigata) 17 (1969) 97.
- Smart, G.; Herbert, F.; Whittaker, N. & Barnes, H. Lancet i (1965) 318.
- Watson, C.; Schwartz, S.; Shulze, W.; Jacobson, L. & Zagaria, R. Clin. Invest. 28 (1949) 465.

V.8. HARDEROPORFIRIA

V.8.1. Historia

En 1980 se detectó una variante de la CPH en 3 hermanos que habían presentado anemia hemolítica y hepatoesplenomegalia al nacer (Nordmann y col., 1983). Estos hermanos, de padres no consanguíneos y aparentemente sanos, excretaban gran cantidad de Harderoporfirina en heces, razón por la cual se denominó a esta enfermedad Harderoporfiria (Figura V.9.) (HP).

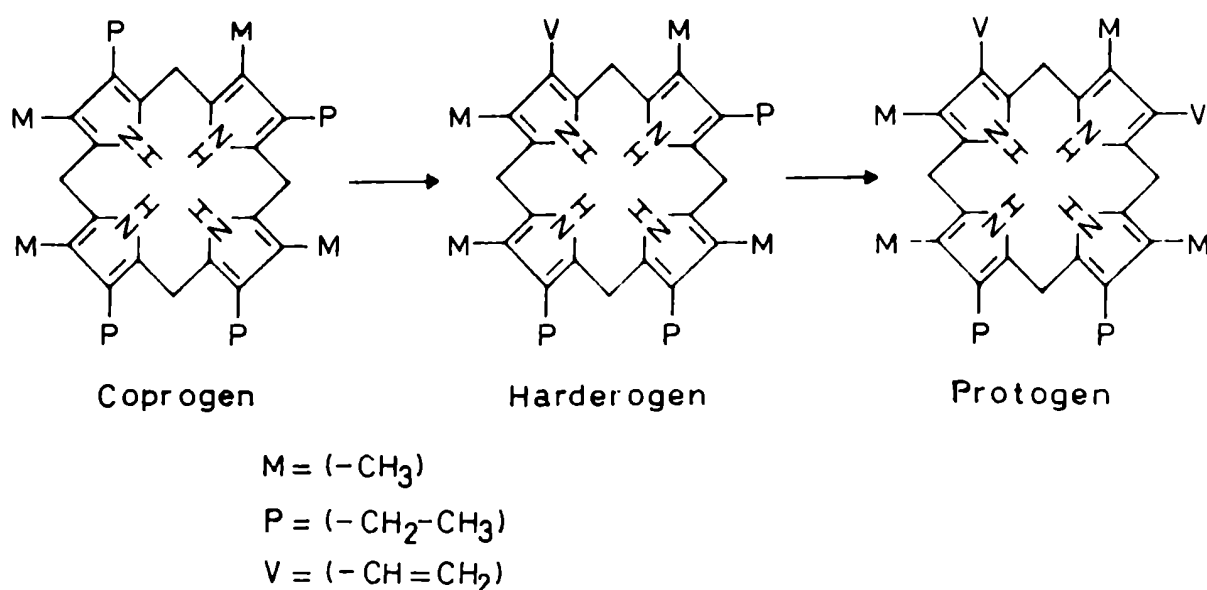


Figura V.9.: *Decarboxilación oxidativa del Coprogen a Protogen, por acción de la Coprogen-oxidasa.*

El Harderoporfirínógeno es un intermediario tricarbóxico observado por primera vez por Sano y Granick en 1961 en la decarboxilación oxidativa del Coprogen a Protogen (Figura V.9.).

La determinación de la actividad de la Coprogen-oxidasa linfocitaria indicó que estaba reducida en un 90% en los enfermos, mientras que la de ambos padres sólo un 50% respecto del valor normal.

La cinética de la Coprogenasa linfocitaria de los harderoporfíricos mostró un aumento del K_m , lo cual indica una menor afinidad de la enzima por el sustrato. Estudios sobre la termoestabilidad de la Coprogenasa de los enfermos presentaron una mayor sensibilidad de la enzima al calor (Nordmann y

col., 1983).

Recientemente se encontró otro caso de Harderoporfiria en un joven alemán, cuyos padres eran primos (Doss y col., 1984).

Hasta ahora, en los 4 casos hallados de Harderoporfiria, los pacientes presentaron al nacer anemia hemolítica y hepatoesplenomegalia, se observó en todos, desarrollo y crecimiento normales y persistencia de una leve anemia hemolítica (Nordmann y col., 1983; Doss y col., 1984).

V.8.2. Referencias

- Doss, M.; Tiepermann, R. & Köpp, W. Lancet (1984) 292.
- Nordmann, Y.; Grandchamp, B.; de Verneuil, H.; Phung, L.;
Cartigny, B. & Fontaine, G. J. Clin. Invest. 72 (1983) 1139.
- Sano, S. & Granick, S. J. Biol. Chem. 236 (1961) 1173.

V.9. NUEVA PORFIRIA AGUDA

La nueva porfiria aguda (NPA) (Doss y col., 1979) es otra de las formas agudas hereditarias de las porfirias hepáticas. Las otras tres pertenecientes a este grupo son las ya nombradas: PAI (V.5.), PV (V.6.) y CPH (V.7.).

La NPA se caracteriza por una excreción urinaria aumentada de ALA y, clínicamente, por los típicos episodios de trastornos neurológicos.

V.9.1. Historia

En 1979, Doss y col., describieron por primera vez el cuadro clínico y bioquímico de la NPA. Los pacientes eran 2 venes de 21 y 23 años de edad que sufrían los síntomas agudos. Es interesante destacar que en ningún familiar de ambos enfermos se observaron trastornos neurológicos, abdominales o tóxicos.

En todos los pacientes y familias estudiados se descartó la posibilidad de una intoxicación por Pb o tirosinemia (Bird y col., 1979; Brandt y Doss, 1981).

V.9.2. Sintomatología

Los síntomas en esta porfiria comprenden, como ya dijimos, la sintomatología típica de una porfiria aguda, o sea, fuertes dolores abdominales, náuseas, constipación y vómitos, debilidad en los cuatro miembros, pérdida de peso, polineuropatía motora distal, taquicardia, parálisis en piernas y brazos, parestesia (V.5.).

V.9.3. Características bioquímicas

V.9.3.1. Patrón de excreción

En la NPA se producen ataques agudos de síntomas abdominales y psiquiátricos, frecuentemente precipitados por factores exógenos o metabólicos, con un patrón de excreción típico (Figura V.1.).

Durante la fase aguda se observa una elevada excreción urinaria de ALA y un leve aumento de PBG, mientras que en remisión los niveles de ALA pueden encontrarse dentro o cerca de los valores normales y el PBG siempre es normal. Las porfirinas fecales y hepáticas son normales tanto en la fase aguda como en remisión, mientras que la Protoporfirina eritrocitaria es normal o se encuentra levemente aumentada. Las concentraciones de Pb, Cd y Cu se mantienen dentro de los márgenes normales.

V.9.3.2. Defecto enzimático primario

En la NPA la actividad del ALA-D eritrocitaria está significativamente disminuída. Doss y col. (1979) demostraron, en pacientes con este tipo de porfiria, que la actividad podía estar disminuída en un 97% con respecto a valores para individuos normales no expuestos a Pb.

Brandt y Doss (1981) estudiaron el comportamiento y purificación del ALA-D eritrocitaria de un paciente con NPA, con el objeto de caracterizarla y descartar la presencia de un inhibidor endógeno o exógeno que podría estar afectando a la proteína. La enzima fue cromatografiada en DEAE celulosa, se realizó ultrafiltración y electroforesis en gel de poliacrilamida, observándose idéntico fraccionamiento, concentración y movilidad electroforética que el ALA-D purificada de individuos normales, mientras que el Km estaba incrementado. Los autores sugieren que la actividad deficiente del ALA-D en los NPA se puede atribuir a pequeñas alteraciones en la estructura primaria proteica.

Es interesante destacar que si bien los pacientes presentan una actividad del ALA-D alrededor del 3% del valor normal, tanto en eritrocitos como en médula ósea (Doss y col., 1983), sus padres tienen un 50% de la actividad de sujetos normales; estos resultados indican que los enfermos se tratan de sujetos homocigotas y que el gen se hereda en forma autosómica recesiva (Doss y col., 1982 a).

V.9.4. Deficiencia enzimática (ALA-D) hereditaria en sujetos asintomáticos

Se han estudiado dos familias, una en EEUU (Bird y col., 1979) y otra en Alemania (Doss y col., 1982 b), observándose que los grupos familiares presentaban una deficiencia significativa del ALA-S eritrocitaria mientras que ninguno de ellos presentaba signos característicos de una porfiria aguda. De un total de 21 personas estudiadas en el grupo norteamericano se encontró que 10 familiares de tres generaciones tenían disminuida la actividad del ALA-D entre el 22 y el 45%. Estos resultados indicarían que se trata de una deficiencia que se hereda en una forma autosómica dominante (Bird y col., 1979).

En el caso de la familia alemana, el propósito había estado expuesto al Pb en forma crónica por razones laborales. Los estudios bioquímicos del paciente mostraron una actividad de ALA-D reducida un 34%, una elevada concentración de Proto en GR, un mediano incremento de las concentraciones de ALA y Copro en orina, mientras que el contenido de Pb sanguíneo correspondía al límite superior normal. Del estudio de 8 familiares en 3 generaciones se observó que en 6 de ellos, la actividad de ALA-D estaba disminuida entre un 35 y 65%, sin presentar ninguno de los familiares signos clínicos o bioquímicos sobre la base de esta anormalidad enzimática (Doss y col., 1982 b). Al igual que en la familia presentada por Bird y col. (1979) la deficiencia enzimática en esta familia se transmite en forma autosómica dominante. Estos resultados no contradicen lo observado por Doss y col. (1982 b), ya que no se excluye la posibilidad de que la enfermedad metabólica (NPA) sólo se pueda expresar en condiciones genéticas recesivas.

V.9.5. Referencias

- Bird, T.; Hamernyik, P.; Nutter, J. & Labbe, R. Am. J. Hum. Genet. 31 (1979) 662.
- Brandt, A. & Doss, M. Hum. Genet. 58 (1981) 194.
- Doss, M.; Tiepermann, R.; Schneider, J. & Schmid, H. Klin. Wochenschr 57 (1979) 1123.
- Doss, M.; Tiepermann, R. & Schneider, J. Klin. Wochenschr. 61 (1983) 699.
- Doss, M.; Schneider, J.; Tiepermann, R. & Brandt, A. Clin. Biochem. 15 (1982 a) 52.
- Doss, M.; Becker, U.; Sixel, F.; Geisse, S.; Solcher, H. & Schneider, J.; Kufner, G.; Schlegel, H. & Stoeppler, M. Klin. Wochenschr. 60 (1982 b) 599.

V.10. PORFIRIA CUTANEA TARDA

La Porfiria Cutánea Tarda (PCT) recibe este calificativo debido a que su manifestación clínica tiene lugar con mayor frecuencia en adultos (Waldenström, 1937). Se la conoce también como porfiria sintomática (Elder y col., 1972).

Se trata de un desorden en el metabolismo del hemo en el cual la sobreproducción y acumulación de porfirinas altamente carboxiladas, en particular uroporfirinas por el hígado, lleva a la sensibilización fotocutánea causada por la acumulación de estos compuestos en piel. A diferencia de las otras porfirias hepáticas, nunca se observan fases o ataques agudos.

V.10.1 Historia

La PCT es el tipo más común de las porfirias humanas en Europa, América y en nuestro país (Magnin y col., 1982). Hasta hace relativamente pocos años se consideraba a la PCT como una enfermedad adquirida, debido, además de su aparición tardía, a la asociación con la ingesta de alcohol (Waldenström, 1957, Watson, 1960), y a su dependencia de otros factores tales como estrógenos (Becker, 1965; Taylor y Roenigk, 1975), hidrocarburos halogenados (Schmid, 1960; Cam y Nigogosyan, 1963) y hierro (Uys y Eales, 1963; Lundvall y col., 1970; Turnbull y col., 1973); a su vez, no se disponía de la historia clínica y datos bioquímicos de los familiares de los pacientes. Sin embargo, por analogía con lo observado en las demás porfirias, durante largo tiempo se había sospechado su carácter hereditario.

Esta enfermedad fue descrita por primera vez por Günther en 1911. Diez años más tarde, Waldenström empleó el nombre actual de Porfiria Cutánea Tarda.

Si bien hasta la década del 50 se había presentado un número considerable de casos con PCT (Barnes, 1945; Borda, 1946; Brunsting y Mason, 1949); la frecuencia en la aparición de pacientes diagnosticados aumentó en forma muy acelerada (Brunsting, 1954); tal es así que en la actualidad es imposible citarlos a todos.

En Sud-Africa, muchos miles de bantúes presentan este

tipo de porfiria debido a una disfunción hepática provocada por el consumo de grandes cantidades de alcohol adulterado.

Es bien conocida la intoxicación de más de 10.000 personas en el Sudeste de Turquía, entre los años 1955-1959, por la ingesta de pan elaborado con trigo que originalmente estaba destinado a la siembra y había sido tratado con el fungicida hexaclorobenceno (HCB) (Cam, 1958, 1959, 1960; Cetingil y Ozen, 1960, Dogramaci y col., 1962; Cam y Nigogosyan, 1963; Peters y col., 1966, 1982). Muchos de los afectados murieron, y tanto éstos como los sobrevivientes presentaban signos evidentes de severas mutilaciones en las áreas expuestas de la cara, piernas y manos además de un serio daño hepático. En todos ellos se encontraban grandes cantidades de porfirinas en orina y sangre. Desde aquel lamentable episodio y trágico brote de "porfiria turca" por hexaclorobenceno se encontraron muchos casos de porfiria cutánea tóxica entre trabajadores expuestos a fungicidas, herbicidas o en contacto continuo con mezclas de detergentes e hipoclorito, todos ellos atribuidos a envenenamiento con distintos hidrocarburos polihalogenados (Elder, 1978; Strik y Koeman, 1979).

V.10.2 Herencia, distribución e incidencia

Hasta no contar con evidencias de tipo genético, la PCT fue considerada como una porfiria adquirida (Waldenström, 1957; Goldberg y Rimington, 1962), que ocurría sólo en sujetos predispuestos (Waldenström y Haeger-Arönsen, 1967; Taddeini y Watson, 1968; Perrot y Thivolet, 1970; Mc Ewin, 1973; Dehlin y col., 1973; Prato y col., 1974; Topi y D'Alessandro, 1976; Cruces Prado y col., 1980). Pero, como ya dijimos, por analogía con las otras porfirias no se podía descartar el carácter hereditario de la misma; y fue Doss quien propuso en 1971, que la PCT podía ser de carácter hereditario o no. Actualmente se acepta que la PCT se clasifica en genética familiar y adquirida tóxica o esporádica; transmitiéndose en el primer grupo con carácter autosómico dominante, de penetrancia variable, aparentemente baja (Kushner y col., 1976; Benedetto y col., 1978; Felsher y col., 1978; Elder y col., 1978; de Verneuil y col., 1978; Wider de Xifra y col., 1979; Doss y col., 1980; Magnin y col., 1980; Magnin y col., 1982; Alleman y col., 1982).

Esta enfermedad está ampliamente distribuida en todo el mundo (Meyer y Schmid, 1979; Enriquez de Salamanca y col., 1982) presentándose con mayor incidencia en la población Bantú Sudafricana (Lamont y col., 1961; Eales, 1971; Pimstone, 1975; Eales y col., 1975).

La PCT se observa con más frecuencia en hombres que en mujeres (Bolgerty Canivet, 1954; Brunsting, 1954; Eales y col., 1975) debido muy probablemente a que el sexo masculino está más expuesto a ciertos agentes precipitantes (Elder y col., 1972). Así, se han encontrado relaciones hombre/mujer de 12/1 entre la población porfírica estudiada (Toppi y D'Alessandro, 1978), de 8/1 (Malina y Chlumsky, 1978), de 13/1 (Enriquez de Salamanca y col., 1982 y CIPYP, junio 1985), mientras que Grossman y col (1979) observaron que la PCT afecta por igual a varones y mujeres. Es interesante destacar que la población porfírica femenina estudiada por estos últimos autores consumía grandes cantidades de alcohol y hormonas estrogénicas.

V.10.3 Sintomatología

Debido al cuadro clínico que caracteriza a la PCT desde el punto de vista hepático y dermatológico, se la conoce también como porfiria hepatocutánea (Enriquez de Salamanca y col., 1982).

V.10.3.1 Manifestaciones dermatológicas

Si bien la fragilidad cutánea ante los mínimos traumatismos constituye el síntoma más precoz de la enfermedad, el rasgo más característico es la formación de ampollas de manera espontánea, por acción del calor, la exposición solar o microtraumatismos (Batlle y col., 1981). Las ampollas, de tamaño variable, contienen un líquido seroso o serohemorrágico, y son frágiles y efímeras dando lugar a erosiones que evolucionan, hacia la formación de costras, las cuales dejan manchas hiperpigmentadas al cicatrizar. Sobre estas cicatrices pueden aparecer microquistes, en forma de granos blancos y duros (Enriquez de Salamanca y col., 1982). Estas lesiones se originan en

las regiones del cuerpo expuestas a la luz y a traumatismos, especialmente en el dorso de las manos.

La fotosensibilización es debida a la presencia de uroporfirinas en plasma, que pasan a las células epidérmicas llegando hasta los lisosomas, donde absorbe la banda del espectro UV comprendida entre los 400-410 nm. Mediante la peroxidación lipídica se genera abundante peróxido de hidrógeno que lesiona las membranas celulares y lisosomales liberando enzimas citolíticas (Batlle y col., 1981).

La hipertrichosis, es también una característica de esta porfiria y se localiza especialmente en orejas, región malar, cejas y aún en frente, presentándose este rasgo muy precozmente (Batlle y col., 1981).

La hiperpigmentación, de patogenia desconocida, difusa o salpicada con zonas vitiligoides (Mascaro y col., 1982) proporciona, junto con la hipertrichosis y las cejas espesas un aspecto característico al rostro porfírico.

La piel puede también presentar alteraciones en su textura, debido a un envejecimiento prematuro.

Las lesiones esclerodérmicas, localizadas preferentemente en la cara, cuello y dorso de manos son relativamente frecuentes (Piñol Aguadé y col., 1971). En las regiones periauriculares, estas lesiones esclerodérmicas tienden a ulcerarse crónicamente asociándose a calcificaciones subcutáneas (Borda y col., 1954; Kaminsky y col., 1964). Son de interés las observaciones realizadas por Varigos y col. (1982) quienes comprobaron que la Uro I estimulaba la síntesis de colágeno en cultivo de fibroblastos humanos, independientemente de la exposición a la luz UV, lo cual explicaría la existencia de lesiones esclerodermiformes en los pacientes con PCT (Magnin y col., 1982).

Se debe hacer notar que todas estas lesiones se manifiestan con distinto grado de intensidad dependiendo del tiempo de evolución de la enfermedad, pudiendo presentarse en forma más destacada en algunos casos especiales de la misma, tales como la porfiria hepatoeritropoyética (Piñol Aguadé y col., 1969, 1975; Simon y col., 1977; Czarnecki, 1980; Herrero y col., 1982; Day y Strauss, 1982; de Verneuil y col., 1984) que podría ser la forma homocigótica de la PCT (Elder y col., 1981)

o el caso descrito por Kushner y col. (1982) asociado a deseritropoyesis o los pacientes con PCT e insuficiencia renal crónica (Iglesias y col., 1980).

V.10.3.11 Acción fotodinámica de las porfirinas

Desde fines de siglo pasado se ha pensado que la luz y las porfirinas estaban estrictamente vinculadas a la inducción de las mencionadas lesiones cutáneas (Polo y col., 1983).

Ya en 1898, Anderson sugirió que las porfirinas estarían asociadas con la anormal sensibilidad a la luz en dos pacientes con *Hydroa aestivale* manifestada con lesiones recurrentes en forma de ampollas en las zonas expuestas del cuerpo. Más adelante, Hausmann en 1911, reveló las propiedades fotodinámicas de la hematoporfirina, demostrando que este compuesto podía actuar como fotosensibilizador sobre glóbulos rojos y *Paramecio*, logrando inducir fotosensibilidad en ratones albininos con hematoporfirina. En 1913, Meyer-Betz, en su famoso autoexperimento, observó que al día siguiente de inyectarse en forma venosa 200 mg de hematoporfirina y luego de una breve exposición a la luz solar, comenzó a experimentar una sensación de prurito y quemadura en las zonas expuestas, desarrollando enseguida eritema y edema.

Sin embargo, es recién en la década del 60 que se retoma este tema, merced a la introducción de nuevos y más sensibles equipos para la detección de porfirinas. Una de las herramientas empleadas para obtener mejor información acerca de la fotosensibilidad en las porfirias, es la cromatografía líquida de alta presión (HPLC o HPTLC) (Polo y col., 1983).

Se ha observado que las lesiones cutáneas en las Porfirias son el resultado de la acumulación de porfirinas en la piel de los pacientes y que el fotodaño depende de la presencia de oxígeno y del tipo de porfirinas. Todos los intermediarios tetrapirrólicos del camino metabólico del hemo son moléculas fotoactivas. Así, a concentraciones equimoleculares, la acción fotosensibilizante, responde al orden: deuteroporfirina > Proto > Copro > Uro (Sandberg y Romslo, 1980).

La cadena de reacciones se inicia cuando las porfirinas se excitan por absorción de energía luminosa. El estado

fundamental de las porfirinas se transforma en estado excitado singulete. La porfirina puede volver al estado fundamental de distintas maneras; ya sea emitiendo energía en forma de luz, lo que da lugar al fenómeno de fluorescencia (Poh-Fitzpatrick, 1982) o por conversión de la porfirina singulete de corta vida media, en un estado triplete metaestable, también excitado.

En presencia de oxígeno molecular, la especie más activa en el fotodaño es el oxígeno singulete mientras que el anión superóxido, el agua oxigenada y el radical oxhidrilo ocupan un lugar secundario. El radical oxhidrilo es un poderoso agente oxidante de compuestos celulares, tales como lípidos (Goldstein y Harber, 1972; Schothorst y Van Stvenick, 1972; Girotti, 1972), colesterol (Lamola y col., 1973; Suwa y col., 1977) y aminoácidos (Goldstein y Harber, 1972; Mauk y Girotti, 1973; Spikes, 1975; de Goiej, 1976) particularmente histidina, metionina, triptofano, cisteína y tirosina (Spikes y Mac Knight, 1970; Girotti, 1979; Sandberg y Romslo, 1981). Es decir, que estos mecanismos fotodinámicos están relacionados directamente con la peroxidación de lípidos de membrana, con el entrecruzamiento entre la membrana celular y las proteínas intracelulares; con la inhibición de enzimas asociadas a la membrana, al citoplasma y a las mitocondrias; con la pérdida de la integridad y funcionalidad de la membrana, ruptura de organelas intracelulares y muerte celular (Poh-Fitzpatrick, 1982).

Existen evidencias de que el daño fotodinámico producido por las porfirinas en la capa superior de la dermis y epidermis, es el hecho primario que culmina en las manifestaciones cutáneas de las Porfirias.

V.10.3.12 Origen y localización de porfirinas en piel

En cuanto al origen de las porfirinas depositadas en piel, mientras la mayoría de los autores postulan que éstas provienen de los tejidos en los cuales está aumentada la formación de porfirinas para cada tipo de Porfiria (Poh-Fitzpatrick, 1982), existen evidencias de que hay biosíntesis de porfirinas *in situ*. La integridad de la batería enzimática en piel se ha confirmado en ratas, ratones y pacientes porfíricos (Bickers y col., 1977; Miura y col., 1982; Polo y col., 1985).

El fotodaño producido por las porfirinas en la piel de pacientes porfíricos depende del tipo de sustituyente de la porfirina acumulada y de la estructura celular relacionada. Se ha observado que es más severo el efecto fototóxico de la protoporfirina sobre las zonas hidrofóbicas de la membrana celular mientras que la uroporfirina actúa sobre los componentes celulares hidrofílicos.

La diferencia existente entre las manifestaciones cutáneas en la PPE y la PCT se atribuye a la distinta solubilidad y localización subcelular de las porfirinas acumuladas en cada una de estas porfirias; mientras la protoporfirina ejerce su acción fotodinámica en el sistema mitocondrial, la uroporfirina actúa sobre los componentes celulares hidrofílicos.

La diferencia existente entre las manifestaciones cutáneas en la PPE y la PCT se atribuye a la distinta solubilidad y localización subcelular de las porfirinas acumuladas en cada una de estas porfirias; mientras la Protoporfirina ejerce su acción fotodinámica en el sistema mitocondrial, la Uroporfirina se concentra en los lisosomas inactivando las enzimas lisosomales al ser irradiada (Sandberg y col., 1982). Esta hipótesis se encuentra avalada por los estudios realizados en hígado de rata (Sandberg y Romslo, 1980; Sandberg y col., 1982) y en leucocitos, GR y fibroblastos humanos (Wakulchick y col., 1980; Sandberg y col., 1981; Sandberg y Romslo, 1981).

En cuanto a la localización de las porfirinas en piel de pacientes con porfiria cutánea se ha observado que se concentran en epidermis inferior, folículos pilosos y dermis (Pearson y Malkinson, 1965); mientras que en pacientes con PPE esta concentración se realiza en subepitelio y epidermis (Runge y Watson, 1962).

Como ya se ha visto en el Capítulo II, las porfirinas presentan un espectro de absorción con un máximo entre 400-410 nm (banda de Soret) encontrándose en el límite entre el UV cercano y el violeta visible. Estas longitudes de onda son capaces de penetrar la epidermis humana (Kirby-Smith y col., 1942; Everett y col., 1966) e iniciar así las reacciones fotoquímicas en dermis superficial.

Del estudio histológico resulta que el daño fototóxico producido por las porfirinas se localiza en dermis y epidermis

inferior para todos los tipos de porfirias (Epstein y col., 1973).

Recientemente, utilizando un micrométodo de cromatografía líquida a alta presión para la determinación cuali y cuantitativa de porfirinas en biopsias de piel (15-30 mg) se observó que los niveles de porfirinas en piel de PCT estaban significativamente aumentados con respecto a los testigos no porfíricos. El perfil cualitativo obtenido fue semejante al observado para las porfirinas urinarias, es decir con predominio en el porcentaje de las octa y heptacarboxiladas (Polo y col., 1983). A su vez, existe un mayor incremento de porfirinas en las biopsias provenientes de zonas expuestas a la luz, comparadas con las no expuestas, debido a los cambios vasculares producidos en el área.

V.10.3.2 Manifestaciones hepáticas

Frecuentemente, la PCT está asociada con distintos grados de daño hepático (Schmid y col., 1954; Taddeini y Watson, 1968; Elder y col., 1972; Pimstone, 1975).

El síndrome hepático se inicia con manifestaciones inespecíficas: dispepsia, anorexia, astenia, hepatomegalia indolora a expensas principalmente del lóbulo izquierdo (Batlle y col., 1981).

De los ensayos usuales de funcionamiento hepático resulta que las transaminasas, la glutamato dehidrogenasa y la sorbitol dehidrogenasa se encuentran casi sistemáticamente alteradas, mientras que la leucin-aminopeptidasa, isocítrico-dehidrogenasa, gamaglutaril-transaminasa y fosfatasa alcalina lo están en forma menos frecuente y las aldolasas, malato-deshidrogenasa y láctico-dehidrogenasa son habitualmente normales.

Los datos bioquímicos no siempre guardan una relación con la histopatología hepática, la ingesta alcohólica y la concentración de porfirinas urinarias (Topi y D'alessandro, 1976). Mientras que la mayoría de los pacientes estudiados por el grupo de Eales resultaron ser alcohólicos crónicos (Eales, 1972), en otros casos sólo el 50% de los mismos ingería más de 150 g diarios de alcohol (Topi y D'alessandro, 1976; Enriquez de Salamanca y col., 1982).

La siderosis hepática es casi un rasgo constante en la PCT (Lamont y col., 1961; Elder y col., 1972; Pimstone, 1975; Meyer y Schmid, 1978; Pimstone, 1982), pero el grado de depósito de hierro en hígado es muy variable y raramente es severo (Turnbull y col., 1973; Pimstone, 1975).

En el hígado porfirico se observan diversos tipos de lesiones histopatológicas; ampliación portal por infiltrado de células mononucleares y por fibrosis, necrosis focal perilobulillar, distorsión de la arquitectura lobulillar, esteatosis y depósitos pigmentarios no sólo de hierro sino también de lipofucsina y material ceroides (Mascaró y col., 1973; Timme y col., 1974; Topi y D'alessandro, 1976; Malina y Chlumsky, 1978). La presencia de inclusiones citoplasmáticas acidulares birrefringentes a la luz polarizada, constituye un rasgo muy característico de la PCT (Waldo y Tobías, 1973) pero tales cristales pueden desaparecer durante las técnicas habituales de tinción debido a su alta hidrosolubilidad (James y col., 1980).

La severidad de la hepatopatía subyacente parece estar en relación con la edad del paciente o más probablemente aún, con el tiempo de evolución de la enfermedad (Cortés y col., 1980). Ippen (1982) sostiene que la PCT no tratada progresa en el curso de 5-20 años desde una esteatosis focal con o sin siderosis a la que se agrega luego fibrosis y mayor siderosis que evoluciona hacia una cirrosis hepática (Batlle y col., 1981).

V.10.4 PCT asociada a otras enfermedades

V.10.4.1 PCT y tumores hepáticos

La posible asociación de PCT y tumores hepáticos de tipo benigno, maligno o metastásico, ha sido materia de publicaciones algo contradictorias (Tio y col., 1957; Thompson y col., 1970; Cochrane y Williams, 1976; Keczkcs y Barker, 1976; Betancor y col., 1978; Enriquez de Salamanca y col., 1979; Meyer, 1980; Cahill, 1982). Uno de los primeros en describir tal asociación fue Tio (Tio y col., 1957). Es interesante destacar en este caso, que luego de extirpar el tumor benigno se obtuvo remisión de los síntomas cutáneos y características bioquímicas de la PCT.

Se ha señalado que los hepatomas se producen con mayor incidencia entre la población con PCT que entre la población sana, lo cual indicaría que el daño hepático producido por la porfiria predispone al desarrollo de dichos tumores (Grossman y Poh-Fitzpatrick, 1980; Kordac, 1972). Sin embargo, Topi y col. (1980) no detectaron ningún tipo de tumor entre sus 96 pacientes estudiados.

También se observó PCT asociada a linfoma de tipo histiocítico (Raybanzadah y col., 1975; Haber, 1977; Maughan y col., 1979; Lai y col., 1984).

V.10.4.2 PCT y lupus

La asociación de PCT y lupus también debe tenerse en cuenta. Sin embargo, la existencia de lupus eritematoso sistémico y PCT (Harris y col., 1966; Hetherinton y col., 1970; Cram y col., 1973) presenta ciertas dificultades al médico, tanto para el diagnóstico como para el tratamiento (Cram y col., 1973) ya que la característica de ambas enfermedades es la fotosensibilidad. Es interesante destacar que las drogas antimaláricas, como la quinolina e hidroxiquinolina, empleadas frecuentemente en el tratamiento de lupus eritematoso sistémico o discoide, pueden precipitar reacciones tóxicas en pacientes con Pofiria Cutánea Tarda (Linden y col., 1954; Cripps y Curtis, 1962).

V.10.4.3 PCT Y diabetes

Se ha señalado también reiteradamente la asociación entre PCT y diabetes. De la población de PCT estudiada por los Dres. Berman y Bielicky (1956) el 20-25% de los pacientes porfíricos estudiados de sexo masculino son diabéticos (Berman, 1956; Salamanca, 1982). La diabetes puede preceder (Berman y Bielicky, 1956; Brunsting, 1954; Freedman, 1956; Rook y Champion, 1960) o ser posterior al desarrollo de la porfiria (Burnham y Fosnaugh, 1961; Jelinek, 1970).

Binazzi, marca la posibilidad de una asociación entre PCT y diabetes química (Binazzi y col., 1976; Binazzi y col., 1978); sobre todo en pacientes mayores de 50 años, sugiriendo-

dose que la diabetes sería secundaria al daño hepático crónico. Sin embargo, Lisi y col. (1983) no pudieron confirmar esta asociación; en cambio observaron que la tolerancia a hidratos de carbono en pacientes con PCT no difiere marcadamente de los controles y sólo en un 10% de sus pacientes con PCT encontraron asociación con diabetes mellitus. Estos autores consideran que la hiperbilirrubinemia observada en la PCT, es semejante a la de otras enfermedades hepáticas crónicas (Lisi y col., 1983).

V.10.4.4 PCT y enfermedades renales

Thivolet y col. (1977) señalan una pseudoporfiria cutánea tarda en los hemodializados. En pacientes con enfermedades renales crónicas que reciben hemodiálisis se produce una dermatosis bullosa morfológica e histológicamente no distinguible de la PCT. A esta erupción se la ha denominado además de "pseudoporfiria", "dermatosis bullosa por hemodiálisis" (Grossman y Poh-Fitzpatrick, 1980). Poh-Fitzpatrick y col. (1978, 1980) y de estudios realizados en nuestro Centro, se observó que los cambios cutáneos en los hemodializados están asociados a altos niveles de porfirinas plasmáticas.

V.10.4.5 Otras asociaciones

Ha sido señalada la asociación de la PCT con anemia refractaria, leucemia mieloide, macroglobulinemia, timoma maligno, anemia hemolítica autoinmune y síndrome de Felty (Pimstone, 1975), con elastoidosis nodular (Temmerman, 1982) y con lepra (Navone y col., 1985).

V.10.5 Características bioquímicas

V.10.5.1 Patrón de excreción

En la PCT sintomática la orina contiene grandes cantidades de porfirinas altamente carboxiladas (Sweeney, 1963; Nacht y col., 1970; Doss y col., 1971), fundamentalmente Uro I y Firia III (Dowdle y col., 1970). Tal distribución isoméri

ca parece deberse a que la decarboxilación del isómero III del Urogen es más rápida que la del I (Mauzerall y Granick, 1958; Hoare y Heath, 1958; de Verneuil y col., 1980).

En contraste con los otros tres tipos de porfirias hepáticas, la excreción urinaria de ALA y PBG se encuentra dentro de los valores normales.

Cuando se analiza el contenido de porfirinas fecales se observa que están aumentadas las porfirinas policarboxiladas (de 7, 6 y 5-COOH) y la isocoprofirina (Barnes, 1958; Lamont y col., 1961; Waldenström y Haeger-Arönsen, 1967; Taddeini y Watson, 1968; Grosser y Eales, 1973; Elder, 1977; Enriquez de Salamanca, 1982).

Las porfirinas plasmáticas y hepáticas adoptan un perfil similar al urinario, aunque con presencia casi exclusiva de las más carboxiladas (de 8 y 7-COOH) (Doss y col., 1971; Poh-Fitzpatrick y Lamola, 1976; Day y col., 1978; Poh-Fitzpatrick, 1980).

V.10.5.2 Defecto enzimático primario específico

El defecto enzimático primario en la PCT se ubica a nivel de la enzima Urogen Decarboxilasa (URO-D) (Kushner y Barbuto, 1975; Kushner y col., 1976; Elder y col., 1978; Felscher y col., 1982; Afonso y col., 1984) (Figura V.1.).

La actividad del ALA-S se encontró significativamente aumentada en sangre de pacientes con PCT hereditaria (Dowdle y col., 1967; Zail y Joubert, 1968) e hígado de PCT hereditaria y adquirida. Se ha observado que el aumento en la actividad del ALA-S hepática se reduce por el tratamiento con flebotomía (Rios de Molina y col., 1980).

La actividad de ALA-D se encuentra dentro de un nivel normal tanto en hígado (Brodie y col., 1979; Goertz y col., 1980) como en eritrocitos (Parera y col., 1980). Sin embargo, Kondo y col. (1983) observaron una actividad disminuida de ALA-D hepática en pacientes porfíricos alcohólicos.

La ausencia de crisis agudas, características de los otros tipos de porfirias hepáticas, puede explicarse en base al incremento observado en el complejo PBG-asa y Deaminasa

(San Martín de Viale y col., 1976; Brodie y col., 1977, 1979; Parera y col., 1980; Magnin y col., 1982). Esto estaría también de acuerdo con la hipótesis de Moore y col. (1980) que proponen que en el caso de las porfirias cutáneas la actividad de la Deaminasa estaría aumentada, lo cual llevaría a una mayor síntesis de porfirinas, produciendo, entonces, la típica fotosensibilización cutánea; ésto también justificaría el alto porcentaje de Uro I en PCT. Sin embargo, otros autores observaron actividad normal de Deaminasa tanto en hígado (Strand y col., 1980) como en glóbulos rojos (Blekkenhorst y col., 1981).

De medidas indirectas no se ha detectado deficiencia de Isomerasa en el complejo PBG-asa (Chinarro, 1984).

La actividad de la CPG-asa resultó ser normal tanto en PCT humana (Brodie y col., 1979) como en su modelo experimental (Elder y col., 1976). La moderada pero evidente concentración de Copro III en orina de PCT, se explica por una acción competitiva entre el Pentagen y el Coprogen sobre la Coprogen-oxidasa (Elder, 1977), sintetizándose entonces grandes cantidades de dehidroisocoproproporfirinógeno, a expensas de la decarboxilación y dehidrogenación del Coproporfirinógeno III. El dehidroisocoproproporfirinógeno puede ser oxidado en el intestino a Isocoproporfirina, característica en las heces de pacientes con PCT (Elder, 1974; Eriksen y Eriksen, 1976) o metabolizado a harderoporfirinógeno (Figura V.10.) posibilidad limitada en esta enfermedad (Enriquez de Salamanca y col., 1982).

Se ha sugerido que los niveles de Ferroquelatasa en PCT podrían estar elevados ya que la actividad enzimática presenta un llamativo incremento (Miranda y col., 1983).

Es probable que ésto responda a un mecanismo compensativo que tiende a mantener suficiente concentración de hemo como para satisfacer la síntesis de hemo microsomal y mitocondrial (Enriquez de Salamanca, 1982).

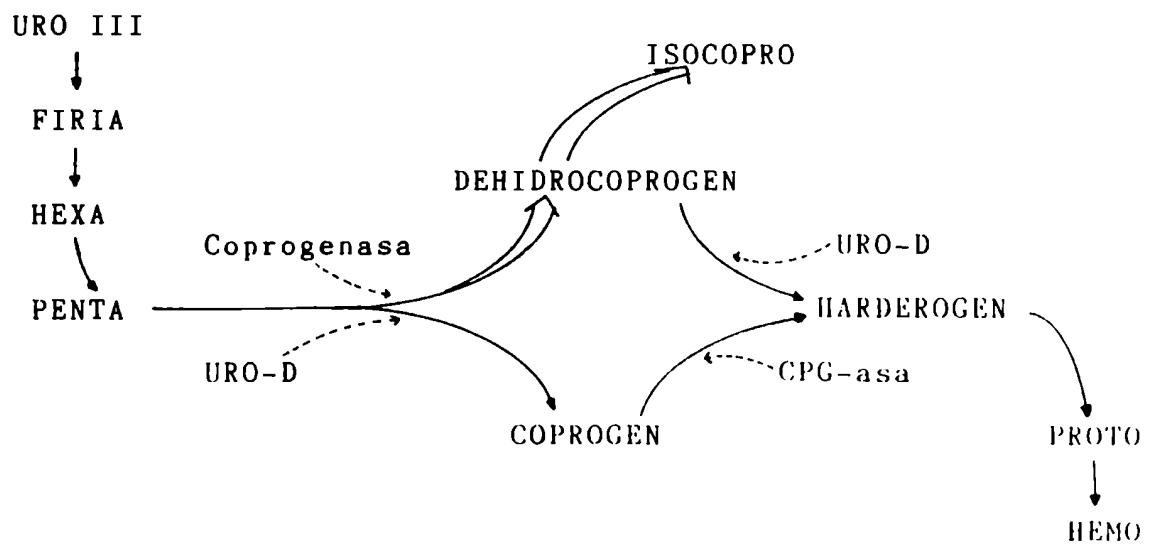


Figura V.10.: Esquema referente a la formación excesiva de isocoproporfininas en la PCT.

V.10.6 Tipos clínicos de PCT

En base a la determinación de la actividad de la URO-D en sangre, esta enfermedad se ha clasificado en dos tipos: hereditaria o familiar (Kushner y Barbuto, 1975; Kushner y col., 1976; Benedetto y col., 1978; Felsner y col., 1978; Elder y col., 1978; de Verneuil y col., 1978; Doss y col., 1980; Elder y col., 1980) y no hereditaria, adquirida o tóxica (Blekkenhorst y col., 1976; Elder y col., 1978, 1980). Sin embargo, la actividad de la URO-D hepática se halla disminuida en ambos tipos de PCT.

Teniendo en cuenta las relaciones entre el síndrome clínico y la medición de la actividad de la URO-D, Benedetto y col. (1978) han clasificado a la PCT en tres tipos: sintomática, subclínica y latente.

En el tipo "sintomático" está presente el síndrome clínico, acompañado de porfirinuria y un patrón de porfirinas urinarias característico para la PCT.

En el tipo "subclínico" están ausentes los síntomas clínicos y aunque la excreción urinaria de porfirinas puede estar aumentada o ser normal, el patrón es característico de PCT.

Por último, el tipo "latente" incluye aquellos indivi-

duos en los cuales jamás se ha presentado algún síntoma clínico y el patrón de porfirinas urinarias es normal.

En los tres tipos de PCT, la URO-D se encuentra disminuida (Parera y col., 1980; Alleman y col., 1982; Afonso y col., 1984).

La Porfiria Cutánea Tarda adquirida puede ser:

1) Post-alcohólica; en ella se incluye a la porfiria Bantú por ingesta de alcohol y desnutrición. 2) Tóxica; por hexaclorobenzeno, diclorofenol, triclorofenol, B.A.L., cloroquinas, griseofulvina, barbituratos, estrógenos (dietilbestrol), sulfonal, fenilhidrazina, etanol, tolbutamida y otras. 3) Sintomática; por la localización de ciertas enfermedades en los sitios del metabolismo de las porfirinas: enfermedad de Hodgkin, hepatoma, macroglobulinemia, timoma, reticulolinfomas, anemia hemolítica, metástasis, hepatitis.

V.10.7 Aparición de la enfermedad

Si bien la PCT se manifiesta entre los 40 y 60 años, han sido relatados casos en niños (Torron y col., 1972; Storck y col., 1972; Piñol Aguadé y col., 1973; Enriquez de Salamanca y col., 1973; García Pérez y col., 1974; Laguna y col., 1975; Topi y col., 1976; D'alessandro Gandolfo y Topi, 1978; Malina y Chlumsky, 1978; Cruces y col., 1980).

En base a la observación de las manifestaciones clínicas de la enfermedad se vió que la edad de aparición de las mismas es menor en casos de PCT familiar que en casos no-hereditarios (Enriquez de Salamanca y col., 1982).

La tardía edad de manifestación de la PCT y la existencia de un elevado número de casos subclínicos sugieren que esta enfermedad es más frecuente de lo sospechado pero que requiere para su manifestación clínica la influencia de diversos factores precipitantes endógenos y/o exógenos.

V.10.8 Rol del hierro en la PCT

La aparición de las manifestaciones clínicas en la PCT, generalmente están asociadas al daño hepático y a la sobrecarga de hierro (Holti y col., 1958; Lamont y col., 1961; Lundvall y col., 1970). La localización de Fe^{59} en hígado de pacientes con PCT es semejante a la observada en hemocromatosis (Saver y Funk, 1969). Sin embargo, la sobrecarga de este metal en hígado observada en hemocromatosis idiopática o hepatosiderosis (Joubert y col., 1973) o en alcoholismo no es capaz de reducir la actividad de la URO-D lo suficiente como para producir porfiria (Pimstone, 1982). Es interesante destacar que la URO-D hepática no se encuentra disminuída en hemocromatosis humana (Felscher y col., 1982).

Se ha comprobado que se puede eliminar el exceso de hierro corporal con flebotomías (Ippen, 1961; Epstein y Redeker, 1968; Lundvall y Weinfeld, 1969; Ramsay y col., 1974; Elder y col., 1978). Los pacientes con este tratamiento mejoran notablemente, mientras que la administración de hierro produce una recaída de la enfermedad (Lundvall, 1971; Ivanov y col., 1982).

Se ha sugerido que el hierro modula la producción de uroporfirina a través de algún mecanismo relacionado con la actividad de la URO-D. Estudios realizados en un modelo animal de PCT demostraron que el tratamiento previo con Fe-dextra no incrementa la acción porfirinogénica del hexaclorobenceno en ratas (Taljaard y col., 1972; Louw y col., 1977) mientras que las sangrías repetidas amortiguan dicho efecto (Blekkenhorst y col., 1980). La droga 2,3-7-8-tetraclorodibenzodioxina (TDCC), altamente porfirinogénica, no produjo porfiria experimental en ratones ferropénicos (Sweeney y col., 1979; Jones y col., 1981); los quelantes de hierro revierten el efecto del pentaclorofenol en cultivos de células hepáticas de embrión de pollo (Sinclair y Granick, 1974).

La acción *in vitro* del hierro sobre la URO-D ha suscitado resultados contradictorios. Recientemente, de Verneuil y col. (1983) observaron que el hierro no tenía ningún efecto sobre la actividad de la enzima purificada de eritrocitos humanos. Se ha comprobado que el ión férrico inhibe competitivamente la enzima hepática tras unirse a sus grupos sulfhidrílicos (Pimstone y Mustajoki, 1982).

Si bien no se conoce el mecanismo mediante el cual el hierro ejerce un efecto sinérgico en el desarrollo de la porfiria en individuos o animales susceptibles, se han propuesto varias teorías para explicar su rol en la PCT.

Una posibilidad sería que el hierro actuara como inhibidor de la URO-D hepática agravando así el defecto genético o adquirido ya existente. La actividad de la URO-D hepática permanece disminuida tras conseguir la remisión de la PCT y la eliminación de los depósitos de hierro mediante sangrías repetidas (Elder y col., 1978; Felsher y col., 1982).

En 1958, Heinkel y col. sugirieron que las elevadas concentraciones hepáticas de hierro pueden alterar el estado redox de la célula, produciendo la oxidación de los porfirinógenos a porfirinas, las que no podrían continuar en la ruta metabólica del hemo. Se ha comprobado en porfiria experimental inducida por compuestos polihalogenados que los niveles de glutatión hepático juegan un rol destacado en la intoxicación. La administración intraperitoneal del reductor logró remitir el cuadro clínico y bioquímico (Kilmington y Ziegler, 1963) y exacerbarlo mediante agentes que disminuyen la concentración de glutatión (Kerklaan y col., 1979).

La siderosis observada en la población porfírica puede presentar niveles anormalmente bajos de vitamina C (Bothwell y col., 1973). Se ha observado que las flebotomías facilitan la oxidación del ascorbato (Bothwell y Charlton, 1975) y disminuyen la sobreproducción de porfirinas (Ippen, 1961; Epstein y Redeker, 1968; Lundvall y Weinfeld, 1969; Ramsay y col., 1974; Elder y col., 1978).

Pimstone (1982) opina que el hierro puede perturbar el camino biosintético del hemo de muchas formas, así como alterar otras funciones metabólicas en el hígado, pero mientras no se establezca su verdadero rol en la PCT, no se podrá determinar cuál es su principal mecanismo de acción.

Para De Matteis (1976) la sobrecarga de hierro origina la peroxidación de los lípidos del retículo endoplasmático de la célula hepática, por lo que el citocromo P₄₅₀ se hace más inestable, se estimula la hemooxigenasa, y como consecuencia de la disminución del hemo hepático se incrementa la actividad del ALA-S. En la PCT, los niveles hepáticos de citocromo

P₄₅₀ se encuentran elevados (Pimstone y col., 1973).

V.10.9 Control y tratamiento

La primera medida que debe aplicarse a los pacientes con PCT consiste en la supresión de todo factor agravante o precipitante; la eliminación del alcohol, hierro, medicamentos estrogénicos y exposición a toxinas ambientales. Se recomienda también la protección de los rayos UV con terapéutica local como antipirina, vaselina de uso veterinario, salicilato de fenilo, metilo, propilaspartato, óxido de cinc, dióxido de titanio, PABA.

Uno de los tratamientos más comunes es la flebotomía (Ippen, 1961; Epstein y Redeker, 1968; Kalivas y col., 1969; Walsh y col., 1970; Lundvall, 1971; Ippen, 1977; Grossman y col., 1980; Pimstone, 1982). Esta terapia fue introducida por Ippen (1961) quien realizó extracciones semanales de 500 ml de sangre hasta completar 4 litros. Strohmeyer (1974) propone dos sangrías de 500 ml por semana durante 4 a 6 meses, una sangría semanal los tres meses siguientes y finalmente una sangría mensual. Ramsay y col. (1974) aconsejan sangrías de 500 ml cada 15 a 30 días hasta la remisión clínica o hasta obtener niveles de hemoglobina menores a 12 g/100 ml y concentraciones de hierro sérico menores a 50-60 ug/100 ml. Este tratamiento dura de 2 a 10 meses, observándose remisión clínica recién a partir del sexto mes de iniciada la terapia. Dicha remisión suele mantenerse después de suspendido el tratamiento durante varios meses. Los niveles de porfirinas urinarias, fecales, plasmáticas y hepáticas (Lundvall y Enerback, 1969) disminuyen significativamente en los pacientes con PCT tratados con flebotomías dentro de los 2 primeros meses de tratamiento (Grossman y Poh-Fitzpatrick, 1980), aunque el patrón de porfirinas continúa siendo anormal (Lundvall y Enerback, 1969).

La flebotomía está contraindicada en casos de anemia, enfermedades cardíacas o respiratorias. En estos casos se ha señalado el efecto benéfico de drogas antiespasmódicas como la cloroquina (Figura V.11.) (Pimstone, 1982).

Aunque la cloroquina se desarrolló durante la segunda guerra mundial como agente antimalárico, posee otras propieda-

des farmacológicas. Debido a su acción antiinflamatoria se la utiliza en el tratamiento de la artritis reumatoidea, del lupus eritematoso discoide, urticaria solar y otras reacciones fotoalérgicas. La cloroquina puede causar cefalea leve y transitoria, perturbaciones visuales, molestias gastrointestinales y prurito. Ninguno de los síntomas es serio y todos desaparecen cuando se suspende el tratamiento (Goodman y Gilman, 1982).

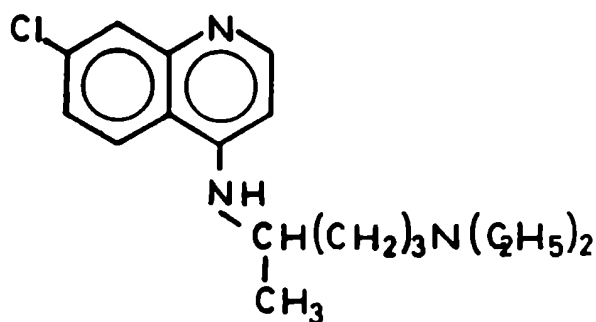


Figura V.11.: *Estructura de la cloroquina*

El tratamiento prolongado con cloroquina en enfermedades no palúdicas produce, generalmente retinopatía caracterizada por pérdida de agudeza visual, pigmentación granular de la mácula y constricción de la arteria retinaria. Si bien este efecto puede detenerse suspendiendo la droga, el daño provocado es irreversible. Se demostró que la cloroquina se almacena en el iris y la coroides de animales de laboratorio, en concentraciones mucho mayores que en otros tejidos (Bernstein y col., 1963).

La cloroquina se absorbe rápidamente y casi por completo en el tracto intestinal, depositándose en cantidades considerables en distintos tejidos. Se ha encontrado que la concentración de cloroquina en hígado, riñón, bazo y pulmón de animales tratados es 200 a 700 veces mayor que la plasmática. Por esta razón la droga debe utilizarse con cuidado en caso de enfermedades hepáticas, severos trastornos gastrointestinales, neurológicos o sanguíneos (Goodman y Gilman, 1982).

Se ha observado que la cloroquina puede precipitar o aún agravar la PCT (Cripps y Curtis, 1962). Sin embargo,

también se ha demostrado su eficacia en el tratamiento de la PCT, lográndose la remisión de los síntomas clínicos y bioquímicos. Se han empleado dosis bajas durante largo tiempo o dosis altas durante una semana (Kowertz, 1973; Vogler y col., 1970).

Una de las primeras terapias fue introducida por London (1957). El tratamiento consistió en la administración de dos dosis diarias de 250 mg cada una durante 7 meses, que se redujo a una dosis diaria por 3 meses, continuando 5 meses más con ocasionales retiros de la droga durante una semana hasta dejar completamente el tratamiento, lográndose completa remisión clínica y bioquímica 2 meses y hasta un año después de completado el mismo.

También se emplearon dosis más altas (de 300-400 mg diarios de nivaquine durante dos meses) lográndose muy buenos resultados (Colomb, 1957). Debe tenerse en cuenta que en un comienzo, la cloroquina en altas dosis (500 mg diarios) durante 8 días (Vogler y col., 1970) puede provocar fiebre, dolores abdominales, náuseas, vómitos, mialgias y un marcado incremento en las transaminasas hepáticas y del ALA urinario (Marsten, 1951; Cripps y Curtis, 1962; Vogler y col., 1970). Se ha establecido que el tratamiento de la PCT con cloroquina provoca la eliminación urinaria de grandes cantidades de porfirinas disminuyendo su concentración en plasma e hígado (Sweeney y col., 1965). Estudios posteriores realizados por el grupo de Scholnick en ratas porfíricas demostraron que la cloroquina formaba complejos con las porfirinas hidrosolubles, facilitando así su excreción (Scholnick y col., 1973).

Saltzer y col. (1968) proponen la administración prolongada de dosis menores para evitar los trastornos laterales indeseados por la administración de dosis altas. Ellos utilizan dosis de 500 mg de cloroquina dos veces por semana durante 7 meses. Hunter y Donald (1970) obtuvieron resultados similares administrando 75 mg diarios de cloroquina durante 1 año.

Se ha observado el efecto beneficioso de la cloroquina en 19 pacientes tratados con 125 mg 2 veces por semana, durante 8 meses y medio (Kordac y Semradova, 1974).

Una variante de este tratamiento fue realizada en Suecia, combinando la cloroquina con flebotomía. Swanbeck y

Wennersten (1977) proponen 1-4 extracciones de sangre de 300 ml cada una a intervalos de 3-7 días, antes de comenzar el tratamiento con cloroquina (250 mg diarios durante una semana).

Malkinson y Levitt (1980) sugieren la administración prolongada (5-13 meses) de hidroxiclороquina, que resultó ser menos tóxica que la cloroquina en el tratamiento de la PCT. Los autores proponen comenzar con una dosis de 100 mg hasta alcanzar los 400 mg diarios.

En nuestro Centro se llevó a cabo en una paciente sintomática con PCT hereditaria, un tratamiento combinado de flebotomías y bajas dosis de cloroquina habiéndose obtenido la remisión completa y no observando recidiva clínica ni bioquímica un año y medio después (Guzman y col., 1985).

La alcalinización de la orina es otro de los tratamientos empleados en la PCT (Ippen, 1961; Bourke y col., 1966; Copeman, 1970). Se ha observado que el pH rige la excreción renal de Coproporfirina pero no de Uroporfirina (Bourke y col., 1966). En condiciones normales, el 50% de la Copro se encuentra no ionizada (pH 7,2) (Falk, 1964) y puede atravesar las células de la pared del túbulo renal distal (donde el pH urinario es 5,0) y pasa nuevamente a la sangre (pH 7,4), favoreciendo de esta forma su reabsorción. Cuando se alcaliniza la orina (pH 7,5-8,0) la Coproporfirina permanece en el túbulo renal distal y luego es excretada por orina. La administración de 4-6 g de bicarbonato de sodio diarios por vía oral aumenta la proporción de Copro urinaria. Durante el tratamiento debe controlarse la alcalinidad de la orina (Copeman, 1970). Copeman encontró, luego de 3 meses de tratamiento una disminución de las porfirinas urinarias y gran mejoría del cuadro clínico. Es común que inicialmente se observe un incremento en la excreción de Coproporfirina, cuyo nivel comienza a decaer luego de una semana de iniciado el tratamiento (Copeman, 1970).

En nuestro Centro se han administrado sellos de 0,685 g de bicarbonato de sodio, en dosis de 3,9 hasta 5,85 mg diarios (pH urinario 7-8) y dieta hipoproteica, a pacientes con PCT. En 20 casos se llevó a cabo un estudio bioquímico de las porfirinas urinarias y fecales, observándose una sensible y significativa disminución de los valores de excreción. Clínicamente también se obtuvo una evolución favorable (Batlle y col., 1981).

La plasmaféresis realizada en pequeños volúmenes es otra de las terapias para la PCT (Allen y col., 1975; Grossman y col., 1979; Miyauchi y col., 1983).

Miyauchi y col. (1983) proponen que se extraigan aproximadamente 440 ml de sangre, se centrifuguen a 1.200 xg durante 15 minutos a 5 °C. La solución plasmática (250 ml) se reemplaza por solución salina fisiológica retornando la sangre al paciente. A un paciente con PCT y elevado contenido de hierro, se le realizaron 120 plasmaféresis (16 se realizaron una por semana y las restantes bisemanales). Luego del tratamiento se obtuvo una evolución favorable, tanto clínica como bioquímica.

Se ha señalado, también la eficacia del Prurinor en el tratamiento de la PCT. Este compuesto que contiene adenina, xantina, hipoxantina, ácido orático, inositol, difosfato de magnesio y fructosa debe administrarse durante un mes (4 a 6 comprimidos diarios) (Capusan y col., 1974).

También los quelantes de hierro como la desferroxiamina se emplean en la PCT (Saunders, 1963). Para Stathers y col. (1966) la colestiramina produjo efectos benéficos en 3 pacientes con PCT, mientras que Donald y col. (1970) no lograron remisión del cuadro clínico en otros 3 casos. La administración oral o intravenosa de edetato de calcio y sodio dió buenos resultados (Donald y col., 1970).

V.10.10 Referencias

- Afonso, S.; Chinarro Familiar, S.; Stella, A.; Batlle, A.; Lenczner, M. & Magnin, P. Rev. Arg. Dermatol. 66 (1984) 12.
- Alleman, M.; Wilson, J.; Van der Berg, J.; Edixhoven-Bosdijk, A. & Gastelquist, L. Clin. Chem. 28 (1982) 1144.
- Allen, B.; Parker, S. & Thompson, G. Br. J. Dermatology 93 (1975) 37.
- Anderson, T. Br. J. Dermatol. 10 (1898) 1.
- Barnes, H. Clin. Proc. 4 (1945) 269.
- Barnes, H. S. Afr. Med. J. 32 (1958) 680.
- Batlle, A.; Magnin, P. & Wider, E. en: "Porfirinas y Porfirias, Etiopatogenia, Clínica y Tratamiento" (1981) EUDEBA.
- Becker, F. Arch. Dermatol. 92 (1965) 252.
- Benedetto, A.; Kushner, J. & Taylor, J. N. Engl. J. Med. 298 (1978) 358.
- Berman, J. Z. ges. inn. Med. 11 (1956) 186.
- Berman, J. & Bielicky, T. Dermatologica 113 (1956) 78.
- Berstein, M.; Svaifler, N.; Rubin, M. & Mausour, A. Invest. Ophthalmol. Visual Sci. 2 (1963) 384.
- Betancor Leon, P.; Campos Cantero, R.; Rojo Castejon, P.; Solis Herruzo, J.; Marin Leon, J. & Schüller Perez, A. Gastroenterología y Hepatología 1 (1978) 166.
- Bickers, D.; Keogh, L.; Rifkind, A.; Harber, L. & Kappas, A. J. Invest. Dermatol. 68 (1977) 5.
- Binazzi, M.; Calandra, P.; Lisi, P.; Tomassini, M.; Frillici, S.; Lattanzi, M.; Brunetti, P. & Bonelli, M. Giorn. Min. Derm. 111 (1976) 427.
- Binazzi, M.; Lisi, P. & Calandra, P. Ann. It. Derm. Clin. Sper. 32 (1978) 211.
- Blekkenhorst, G.; Day, R. & Eales, L. Int. J. Biochem. 12 (1980) 1013.
- Blekkenhorst, G.; Day, R. & Eales, L. Int. J. Biochem. 13 (1981) 963.

- Blekkenhorst, G.; Pimstone, N. & Eales, L. en: "Porphyrins in Human Diseases" (1976) 299. (Ed. M. Doss) Karger Basel.
- Bolgert, M. & Canivet, J. Brit. J. Dermat. 66 (1954) 312.
- Bonkowsky, H.; Sinclair, P. & Sinclair, J. Yale J. Biol. Med. 52 (1979) 13.
- Borda, J. en: "Porfirinas y Porfirias: Consideraciones especiales sobre clínica y clasificación de Dermatosis porfíricas" (1946) Bs.As. López y Etchegoyen SRL.
- Borda, J.; Stringa, S. & Mancini, R. Arch. Argent. Dermat. 4 (1954) 202.
- Bothwell, T. & Charlton, R. en: "Iron Metabolism and its disorders" (1975) 221. (Ed. H. Kief) American Elsevier, New York.
- Bothwell, T.; Charlton, R. & Seftel, H. en: "Liver" (1973) 366. (Eds. S. Saunders y J. Terblanche) Pitman Medical London.
- Bourke, E.; Copeman, P.; Milne, M. & Stokes, G. Lancet i (1966) 1394.
- Brodie, M.; Moore, M. & Goldberg, P. Lancet 2 (1977) 699.
- Brodie, M.; Thompson, G. & Moore, M. Acta Hepatogastroenterologica 26 (1979) 122.
- Brunsting, L. Arch. Dermat. G. Syph. 70 (1954) 551.
- Brunsting, L. & Mason, H. Arch. Dermat. G. Syph. 60 (1949) 66.
- Burnham, T. & Fosnaugh, R. Archs. Derm. 83 (1961) 717.
- Cahill, G. en: "Scientific America Medicine" 9 (1982) 4 (Eds. E. Rubinstein y D. Federman) New York.
- Cam, S. Saglik Dergisi 32 (1958) 215.
- Cam, S. Dirim 34 (1959) 11.
- Cam, S. Ann. Derm. Syph. 87 (1960) 393.
- Cam, C. & Nigogosyan, G. J.A.M.A. 183 (1963) 88.
- Capusan, I.; Opincaru, E.; Bociat, T.; Lazar, V. & Moisi, I. Zeitschr. F. Hautkrh 49 (1974) 575.
- Cetingil, A. & Ozen, M. Blood 16 (1960) 1002.

- Cochrane, M. & Williams, R. en: "Hepatocellular carcinoma" (1976) 344 (Eds. R. Peters y K. Okuda) New York: John Wiley y Sons.
- Colomb, M.; Societe de Dermatologie et syphiligraphie. Bulletin de Dermatologie 64 (1957) 420. (Reunión de Lyon, 1956).
- Copeman, P. Br. J. Derm. 82 (1970) 385.
- Cortes, J.; Oliva, H.; Paradinas, F. & Fernández-Guio, C. Histopathology 4 (1980) 471.
- Cram, D.; Epstein, J. & Tuffanelli, D. Arch. Dermatol. 108 (1973) 779.
- Cripps, D. & Curtis, A. Arch. Dermatol. 86 (1962) 575.
- Cruces Prado, M.; Enriquez de Salamanca, R.; Vereza, M.; Peñas, M.; Catalan, T. & Robledo, A. Dermatológica 161 (1980) 205.
- Czarnecki, D. Arch. Dermatol. Malta 116 (1980) 307.
- Chinarro, S. Tesis Doctoral (1985) España.
- D'Alessandro Gandolfo, L. & Topi, G. en: "Diagnosis and Therapy of Porphyrrias and Lead Intoxication" (1978) 139. (Ed. M. Doss). Springer-Berlag. Berlín.
- Day, R.; Blekkenhorst, G. & Eales, L. Int. J. Biochem. 12 (1980) 1007.
- Day, R. & Eales, L. Nephron 26 (1980) 90.
- Day, R.; Pimstone, N. & Eales, L. Int. J. Biochem. 9 (1978) 897.
- Day, R. & Strauss, P. Arch. Dermatol. 118 (1982) 663.
- De Goeij, A. Clin. Chim. Acta 71 (1976) 485.
- Dehlin, D.; Enerback, L. & Lundvall, O. Acta Med. Scand. 194 (1973) 265.
- De Matteis, F. en: "Porphyrin in human disease" (1976) 37 (Ed. M. Doss) Karger, Basel.
- de Verneuil, H.; Grandchamp, B. & Nordmann, Y. Biochim. Biophys. Acta 611 (1980) 174.
- de Verneuil, H.; Nordmann, Y.; Phung, N.; Grandchamp, B.; Aitken, G.; Grelhier, M. & Noire, J. Int. J. Biochem. 9 (1978) 927.

- de Verneuil, H.; Sassa, S. & Kappas, A. Biochem. J. 214 (1983) 145.
- Dogramaci, I.; Wray, J. & Ergene, T. Turk J. Pediatr. 4 (1962) 138.
- Donald, G.; Hunter, G.; Roman, W. & Taylor, A. Br. J. Derm. 82 (1970) 70.
- Doss, M. Klin. Wschr. 49 (1971) 941.
- Doss, M.; Look, D.; Henning, H.; Luders, C.; Dolle, W. & Strohmeyer, G. Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 9 (1971) 471.
- Doss, M.; Meinhof, W.; Look, D.; Henning, H.; Nawrocki, P.; Dolle, W.; Strohmeyer, G. & Filippini, I. S. Afr. Med. J. 45 (1971) 50.
- Doss, M.; Schermuly, E.; Look, D. & Henning, H. en: "Porphyrins in Human Disease" (1976) 286 (Ed. M. Doss) Karger-Basel.
- Doss, M.; Tiepermann, R. & Look, D. Klin. Wochenschr. 58 (1980) 1347.
- Dowdle, E.; Goldwain, P.; Spong, N. & Eales, L. Clin. Sci. 39 (1970) 147.
- Dowdle, E.; Mustard, P. & Eales, L. S. Afr. Med. J. 41 (1967) 1093.
- Eales, L. en: "Essays on Tropical Dermatology" 2 (1972) 129. (Ed. J. Marshall) Excerpta Medica Amsterdam.
- Eales, L.; Grosser, Y. & Sears, W. Ann. N. Y. Acad. Sci. USA 244 (1975) 441.
- Elder, G. Enzyme 17 (1974) 61.
- Elder, G. Semin. Hematol. 14 (1977) 227.
- Elder, G. en: "Handbook of Experimental Pharmacology" 44 (1978) 157. (Eds. F. De Matteis y W. Aldridge). Springer-Verlag. Berlin.
- Elder, G.; Evans, J. & Matlin, S. en: "Porphyrins in Human Diseases" (1976) 424 (Ed. M. Doss) Karger-Basel.
- Elder, G.; Gray, C. & Nicholson, D. J. Clin. Path. 25 (1972) 1013.

- Elder, G.; Lee, G. & Tovey, J. N. Engl. J. Med. 299 (1978) 274.
- Elder, G. & Path, F. Seminars in liver disease 2 (1982) 87.
- Elder, G.; Sheppard, D.; Enriquez de Salamanca, R. & Olmos, A. Clin. Sci. 58 (1980) 477.
- Elder, G.; Smith, S. & Herrero, C. Lancet 1 (1981) 916.
- Enriquez de Salamanca, R.; Chinarro, S.; Valls, V.; Muñoz, J.; Perpiñá, J.; Bergés, L.; Pascual, R. & Olmos, A. Endocrinología Clínica y Metabolismo 4 (1982) 46.
- Enriquez de Salamanca, R.; Nuñez, M.; Sanz, C. & Catalani, T. Med. Cut. 7 (1973) 69.
- Enriquez de Salamanca, R.; Romero García-Alix, F.; Prieto Rodríguez, S.; Martín Alonso, A. & Peña Payero, M. Gastroenterología y Hepatología 2 (1979) 27.
- Epstein, J. & Redeker, A. New Engl. J. Med. 279 (1968) 1301
- Epstein, J.; Tuffanelli, D. & Epstein, W. Arch. Dermatol. 107 (1973) 689.
- Eriksen, N. & Eriksen, N. en: "Porphyrins in Human Diseases" (1976) 105 (Ed. M. Doss) Karger, Basel.
- Everett, M.; Yeagers, E.; Saygre, R. & Olson, R. Photochem. Photobiol. 5 (1966) 533.
- Falk, J. en: Porphyrins and Metalloporphyrins. Their general, physical and coordination chemistry and laboratory methods" (1964) 266. New York. Elsevier.
- Felsher, B.; Carpio, N.; Engleking, D. & Nunn, A. N. Engl. J. Med. 306 (1982) 766.
- Felsher, B.; Norris, M. & Shih, J. N. Engl. J. Med. 299 (1978) 1095.
- Felsher, B. & Redeker, A. Medicine 45 (1966) 575.
- Freedman, A. Ann. Intern. Med. 44 (1956) 391.
- Frydman, R. & Feinstein, G. Biochim. Biophys. Acta 350 (1974) 358.
- García Pérez, A.; Bravo, J. & Juanes, A. Excerpta Medica, Amsterdam (1974) 423. XIV Inter. Congr. Derm. Padua-Venecia (1972).

- Girotti, A. Biochem. Biophys. Res. Commun. 72 (1976) 1367.
- Girotti, A. Biochemistry 18 (1979) 4403.
- Goertz, G.; Jacobs, A. & Wizethum, W. Arch. Dermatol. Res. 268 (1980) 109.
- Goldberg, A. & Rimington, C. en: "Diseases of porphyrin metabolism" (1962) Thomas, Springfield, Illinois.
- Goldstein, B. & Harber, L. J. Clin. Invest. 51 (1972) 892.
- Goodman, L. & Gilman, A. en "Las bases farmacológicas de la terapéutica" (1982) 6ª ed., pag 1025.
- Grosser, Y. & Eales, L. S. Afr. Med. J. 47 (1973) 2162.
- Grossman, M.; Bickers, D.; Poh-Fitzpatrick, M. & Deleo, V. Am. J. Med. 67 (1979) 277.
- Grossman, M. & Poh-Fitzpatrick, M. Med. Clin. North America 64 (1980) 807.
- Günther, H. Deut. Med. Wschr. 37 (1911) 1771.
- Haber, L. en: "Clinical Dermatology" 2 (1977) 6 (Eds. D. Denis, R. Dobson y S. Mc Quire) New York. Harper y Row.
- Hansmann, W. Biochem. Zeitschrift 30 (1911) 276.
- Harris, M.; Mills, G. & Levin, W. Arch. Intern. Med. 117 (1966) 425.
- Heinkel, T.; Lockwood, W. & Rimington, C. Nature 182 (1958) 313.
- Herrero, C.; Lecha, M.; Moniesa, A.; Mascaro, J. & Smith, S. en: "Symposium of Porphyrias" (1982) 29 (Eds. J. Mascaró, F. Miura y P. Santoiani) Garsi S.A. Madrid.
- Hetherington, G.; Jetton, R. & Knox, J. Br. J. Dermatol. 82 (1970) 118.
- Hoare, D. & Heath, H. Nature 181 (1958) 1592.
- Holti, G.; Rimington, C.; Tate, B. & Thomas, G. Q.J. Med. 27 (1958) 1.
- Hunter, G. & Donald, G. British J. Dermat. 83 (1970) 702.
- Iglesias, L.; Enriquez de Salarnaca, R.; Guerra, A.; Moreno, R. & Vanaclocha, F. Gaceta Dermatológica 1 (1980) 1.
- Ippen, H. Dtsch. Med. Woche schr. 86 (1961) 127.

- Ippen, H. Semin. Hematol. 14 (1977) 253.
- Ippen, H. en: "Symposium of Porphyrias" (1982) 55. (Eds. J. Mascaró, T. Miura y P. Santoiani) Barsi S.A. Madrid.
- Ivanov, E.; Adjarov, D.; Kerimova, M. & Naidenova, E. Dermatológica 164 (1982) 164.
- James, K.; Cortes, J. & Paradinas, F. J. Clin. Pathol. 33 (1980) 899.
- Jelinek, J. en: "The year book of dermatology" (1970) 5. (Ed. A. Kopf) Chicago.
- Jones, K.; Cole, F. & Sweeney, G. Toxicol. Appl. Pharmacol. 61 (1981) 74.
- Joubert, S.; Taljaard, J. & Shanley, B. en: "Liver" (Abst.) (1973) (Eds. S. Saunders y J. Terblanche) Pitman Medical. (London).
- Kalivas, J.; Patnak, M. & Fitzpatrick, T. Lancet 1 (1969) 1184.
- Kaminsky, A.; Jaimovitch, I.; Rosales, H.; Cammarota, H. & Viglioglia, P. Prensa Med. Argent. 51 (1964) 1096.
- Kaufman, L. & Marver, H. New Engl. J. Med. 283 (1970) 954.
- Keczkcs, K. & Barker, D. Arch. Dermatol. 112 (1976) 78.
- Kerklaan, P.; Strik, J. & Kowman, J. en: "Chemical porphyria in man" (1979) 151. (Eds. J. Strik y Koeman) Elsevier North-Holland Biomedical Press. Amsterdam.
- Kirby-Smith, J.; Blum, H. & Grady, H. J. Natl. Cancer Inst. 2 (1942) 403.
- Kondo, M.; Urata, G. & Shimizu, Y. Clin. Sci. 65 (1983) 423.
- Kordac, V. Neoplasma 19 (1972) 135.
- Kordac, V. & Semradova, M. Brit. J. Dermatol. 90 (1974) 95.
- Kowertz, M. JAMA 223 (1973) 515.
- Kushner, J. & Barbuto, A. Clin. Res. 23 (1975) 403A.
- Kushner, J.; Barbuto, A. & Lee, G. J. Clin. Inv. 58 (1976) 1089.
- Kushner, J.; Lee, G. & Nacht, S. J. Clin. Invest. 51 (1972) 3044.
- Kushner, J.; Pimstone, N.; Kjeldsberg, C.; Pryor, M. & Huntley, A. Blood 59 (1982) 725.

- Laguna, C.; Velasco, J. & Enriquez de Salamanca, R. Bol. Cat. Pediat. Madrid 18 (1975) 3.
- Lai, CH.; Wu, P.; Lin, H. & Wong, K. Cancer 53 (1984) 573.
- Lamola, A.; Yamane, T. & Trozzolo, A. Science 179 (1973) 1131.
- Lamont, N.; Hathorn, M. & Joubert, S. Q. J. Med. 30 (1961) 373.
- Levere, R. Blood 28 (1966) 569.
- Linden, L.; Steffen, C. & Newcomer, V. Calif. Med. 81 (1954) 234.
- Lisi, P.; Santeusano, F.; Lombardi, G. & Compagnucci, P. Dermatologica 166 (1983) 287.
- London, I. A. M. A. Archives of Dermatology 57 (1957) 801.
- Louw, M.; Neethling, A.; Percy, V.; Carsten, M. & Shanley, B. Clin. Sci. Mol. Med. 53 (1977) 111.
- Lundvall, O. Acta Med. Scand. 189 (1971) 33.
- Lundvall, O. & Enerback, L. J. Clin. Pathol. 22 (1969) 704.
- Lundvall, O. & Weinfeld, A. Acta Med. Scand. 184 (1969) 191.
- Lundvall, D.; Weinfeld, A. & Lundin, P. Acta Med. Scand. 188 (1970) 37.
- Magnin, P.; Batlle, A.; Wider de Xifra, E. & Stella, A. Rev. Arg. Dermatol. 63 (1982) 177.
- Magnin, P.; Wider de Xifra, E.; Lenczner, M.; Stella, A. & Batlle, A. Int. J. Biochem. 12 (1980) 873.
- Malina, L. & Chlumsky, J. en: "Diagnosis and therapy of Porphyrria and lead intoxication" (1978) 117. (Ed. M. Doss) Springer-Verlag, Berlín.
- Malkinson, F. & Levitt, L. Arch. Dermatol. 116 (1980) 1147.
- Marsten, C. Brit. J. Dermatol. 71 (1959) 211.
- Mauk, M. & Girotti, A. Biochemistry 12 (1973) 3181.
- Mascaró, J.; Lecha, M.; Herrero, C.; Muniesa, A. & Smith, S. en: "Simposium of Porphyrrias" (1982) 13. (Ed. J. Mascaró, T. Miura y P. Santoiani) Garsi. S.A. Madrid.
- Mascaró, J.; Piñol Aguadé, J.; Bruguera, M. & Galy-Mascaró, C. Actas Dermo-Sif. 64 (1973) 177.

- Maugham, W.; Moller, S. & Perry, H. Acta Dermatol. (Stockholm) (1979) 55.
- Mauzerall, D. & Granick, S. J. Biol. Chem. 232 (1958) 1141.
- Mc Ewin, R. Med. J. Aust. 2 (1973) 398.
- Meyer, V. en: "Harrison's Principles of Internal Medicine" 9 (1980) 494. Tokyo. Mc Graw-Hill Kogakusha.
- Meyer,-Betz, F. Dtch. Arch. Klin. Med. 112(1913) 476.
- Meyer, V. & Schmid, R. en: "The metabolic basis of inherited disease" 4th.ed. (1978) 1186 (Eds. J. Standbury, J. Wyngaarden y D. Frederick) Mc Graw Hill, New York.
- Miranda, C.; Wang, J.; Henderson, M.; Carpenter, H.; Nakane, H. & Buhler, D. Toxicology 28 (1983) 83.
- Miura, T.; Torinuki, W. & Kumai, N. en: "XVI Congressus Internationalis Dermatologiae" (1982) 73 (Eds. J. Macaró; T. Miura y P. Santoiani).
- Miyauchi, S.; Shiraishi, S. & Miki, Y. Arch. Dermatol. 119 (1983) 752
- Moore, M. ; Thompson, G.; Allen, B.; Hunter, J. & Parker , S. Clin. Sc. Mol. Med. 45 (1973) 711.
- Moore, M.; Mc Coll, K. & Goldberg, A. Int. J. Biochem. 12 (1980) 941.
- Nacht, S.; San Martín de Viale, L. & Grinstein, M. Clin. Chim. Acta 27 (1970) 445.
- Navone, N.; Soto, I.; Vaquero, N.; Rossetti, M. & Batlle, A. (1985) en preparación.
- Parera, V.; Stella, A.; Wider de Xifra, E.; Fukuda, H. & Batlle, A. Int. J. Biochem. 12 (1980) 947.
- Pearson, R. & Malkinson, F. J. Invest. Dermatol. 44 (1965) 420.
- Perrot, H. & Thivolet, J. Ann. Dermatol. Syphiligr. París 97 (1970) 5.
- Peters, H.; Gocmen, A.; Cripps, D.; Bryan, G. & Dogramaci, I. Arch. Neurol. 39 (1982) 744.
- Peters, H.; Johnson, S. & Cam.S. Am.J.Med.Sci. 251 (1966) 314.
- Pimstone, N. Mod. Trends Gastroenterol. 5 (1975) 373.
- Pimstone, N. Sem. Liver Disease 2 (1982) 132.

- Pimstone, N.; Blekkenhorst, G. & Eales, L. Enzyme 16 (1973) 354.
- Pimstone, N. & Mustajoki, S. Abs. Int. Assoc. 2 (1982) 433.
- Piñol Aguadé, J.; Castells, A.; Indacochea, A. & Rodes, J. Br. J. Dermatol. 81 (1969) 270.
- Piñol Aguadé, J.; Herrero, C. & Almeida, J. Ann. Dermatol. Syphilol. 102 (1975) 129.
- Piñol Aguadé, J.; Lecha, M.; Almeida, J.; Herrero, C. & Galy de Mascaró, C. Med. Ent. 7 (1973) 45.
- Piñol Aguadé, J.; Mascaró, J. & Galy-Mascaró, C. Med. Cut. 5 (1971) 235.
- Poh-Fitzpatrick, M. Arch. Dermatol. 116 (1980) 543.
- Poh-Fitzpatrick, M. Seminars in liver disease 2 (1982) 164.
- Poh-Fitzpatrick, M.; Bellet, N. & De Leo, V. New Engl. J. Med. 299 (1978) 292.
- Poh-Fitzpatrick, M. & Lamola, A. J. Lab. Clin. Med. 87 (1976) 362.
- Poh-Fitzpatrick, M.; Masullo, A. & Grossman, M. Arch. Dermatol 116 (1980) 191.
- Polo, C.; Stella, A.; Wider, E.; Batlle, A.; Lenczner, J.; Altuna, L. & Magnin, P. La Prensa Médica Argentina 70 (1983) 433.
- Polo, C.; Afonso, S.; Navone, N.; Buzaleh, A.; Vázquez, E. & Batlle, A. International Conference on porphyrins and porphyrias (1985) París.
- Prato, V.; Mazza, V.; Battistini, V. & Mascaró, L. Minerva Med. 65 (1974) 3599.
- Ramsay, C.; Magnus, I.; Turnbull, A. & Baker, H. Q. J. Med. 43 (1974) 1.
- Rasmussen, G. & Kushner, J. J. Lab. Clin. Med. 93 (1979) 54.
- Rayhanzadah, S.; Shoss, R. & Noyes, J. Arch. Dermatol. 111 (1975) 129.
- Rimington, C. & Ziegler, G. Biochem. Pharmacol. 12 (1963) 1387.

- Ríos de Molina, M.; Wainstok de Camanovici, R. & San Martín de Viale, L. *Int. J. Biochem.* 12 (1980) 1027.
- Rook, A. & Champion, R. *Br. Med. J.* i (1960) 860.
- Runge, W. & Watson, C. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 109 (1962) 809.
- Saltzer, E.; Redeker, A. & Wilson, J. *Arch. Derm.* 98 (1968) 496.
- Sandberg, S.; Glette, J. & Hope, A. *Photochem. Photobiol.* 34 (1981) 471.
- Sandberg, S. & Romslo, I. *Biochim. Biophys. Acta* 593 (1980) 187.
- Sandberg, S.; Romslo, I.; Hovding, G. & Bjorndal, T. *Acta Dermatovenere (Stockholm) Suppl.* 100 (1982) 75.
- San Martín de Viale, L.; Ríos de Molina, M.; Wainstok, R. & Tomio, J. en: "Porphyrin in human disease" (1976) 445. (Ed. M. Doss) Karger-Basel.
- Saunders, S. S. *Afr. J. Lab. Clin. Med.* 9 (1963) 277.
- Saver, G. & Funk, D. *Arch. Int. Med.* 124 (1969) 190.
- Schmid, R. N. *Engl. J. Med.* 263 (1960) 393.
- Schmid, R.; Schwartz, S. & Watson, C. *AMA Arch. Int. Med.* 93 (1954) 167.
- Scholnick, P.; Epstein, J. & Marver, S. J. *Invest. Dermatol.* 61 (1973) 226.
- Scholnick, P. & Marver, H. *Clin. Res.* 16 (1968) 258.
- Schothorst, A. & Van Stevenick, J. *Clin. Chim. Acta* 39 (1972) 161.
- Simon, N.; Berko, G. & Schneider, I. *Br. J. Dermatol.* 96 (1977) 663.
- Simon, N. & Kiss, M. *Arch. Dermatol. Res.* 266 (1979) 121.
- Sinclair, P. & Granick, S. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 61 (1974) 124.
- Spikes, J. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 244 (1975) 496.
- Spikes, J. & Mac Knight, M. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 171 (1970) 149.
- Stathers, G. *Lancet* ii (1966) 780.

- Storck, H.; Schwartz, K, & Ott, Bull. Soc. Franc. Syphy. 79 (1972) 240.
- Strand, L.; Felsher, B.; Redeker, A. & Marver, H. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 67 (1970) 1315.
- Strik, Jjtwa y Koeman, J. en: "Chemical Porphyria in man" (1979) Elsevier, Amsterdam.
- Strohmeier, G. Med. Welt. 46 (1974) 1911.
- Suwa, K.; Kimura, T. & Schaap, A. Biochem. Biophys. Res. Commun. 75 (1977) 785.
- Swanbeck, G. & Wennersten, G. British. J. Dermatol. 97 (1977) 77.
- Sweeney, G. S. Afr. J. Lab. Clin. Med. 9 (1963) 182.
- Sweeney, G.; Jones, K.; Cole, F.; Basford, D. & Krestynski, F. Science 204 (1979) 332.
- Sweeney, G.; Saunders, S.; Dowdle, E. & Eales, L. Brit. Med. J. 1 (1965) 1281.
- Taddeini, L. & Watson, C. Semi. Haemat. 5 (1968) 335.
- Taljaard, J.; Shanley, B.; De Pee, W. & Joubert, S. Brit. J. Haematol. 23 (1972) 513.
- Taylor, J. & Roenigk, H. en: "Porphyrins in Human Diseases" (1975) 328 (Ed. M. Doss) Springer-Verlag, New York.
- Temmerman, L. Dermatologica 165 (1982) 512.
- Thivolet, J.; Euvrard, S.; Perrot, H.; Moskoutchenko, J.; Claudy, A. & Optonne, J. Ann. Derm. Vénéreol 104 (1977) 12.
- Thompson, R.; Nicholson, D.; Farnan, T.; Withmore, A. & Williams, R. Gastroenterology 59 (1970) 779.
- Timme, A.; Dowdle, E. & Eales, L. S. Afr. Med. J. 48 (1974) 1803.
- Tio, T.; Leijnse, B.; Jarrett, A. & Rimington, C. Clin. Sci. 16 (1957) 517.
- Topi, G. & D'Alessandro Gandolfo, L. en: "Porphyrins in Human Disease" (1976) 312. (Ed. M. Doss) Karger-Basel.
- Topi, G. & D'Alessandro Gandolfo, L. en: "Diagnosis and Therapy of Porphyrins and lead intoxication" (1978) 107. (Ed. M. Doss) Springer-Verlag, Berlin.

- Topi, G.; D'Alessandro Gandolfo, L.; Griso, O. & Morini, S.
Int. J. Biochem. 12 (1980) 883.
- Torron, M.; Enriquez de Salamanca, R. & Suarez Lombera, C.
Actas Dermosifs. 63 (1972) 499.
- Turnbull, A.; Baker, H.; Vernon-Roberts, B. & Magnus, I. Q.
J. Med. 42 (1973) 341.
- Uys, C. & Eales, L. S. Afr. J. Lab. Clin. Med. 9 (1963)
190.
- Varigos, G.; Schiltz, J. & Bickers, D. J. Clin. Invest. 69
(1982) 129.
- Vogler, W.; Galambos, J. & Olansky, S. Amer. J. Med. 49
(1970) 316.
- Wakulchik, S.; Shiltz, J. & Bickers, D. J. Lab. Clin. Med.
96 (1980) 158.
- Waldenström, J. Acta Med. Scandinav. Supp. 82 (1937) 1.
- Waldenström, J. Am. J. Med. 22 (1957) 758.
- Waldenström, J. & Haeger-Arönsen, B. en: "Progress in Medical
Genetics" vol. V (1967) 58. (Ed. A. Steinberg & A. Bearns)
Grune y Stratton, New York y London.
- Waldo, E. & Tobias, H. Arch. Pathol. 96 (1973) 368.
- Walsh, J.; Lobitz, W. & Mahler, D. Arch. Dermat. 101 (1970)
167.
- Watson, C. N. Engl. J. Med. 263 (1960) 1205.
- Wider de Xifra, E.; Stella, A.; Juknat, A.; Batlle, A.; Mag
nin, P. & Castellanos-Posse, F. Rev. Arg. Dermat. 60 (1979)
226.
- Zail, S. & Joubert, S. Br. J. Haematol. 15 (1968) 123.

V.11. PORFIRIA HEPATOERITROPOYETICA

La Porfiria Hepatoeritropoyética (PHE) es una rara variante de la PCT, que se manifiesta por una temprana fotosensibilidad cutánea, generalmente durante el primer año de vida.

Si bien el primer paciente con este tipo de porfiria fue descrito en 1967 por Günther, recién en 1975, Piñol Aguadé y col. emplearon el término hepatoeritropoyética para describir esta enfermedad.

Esta porfiria es clínicamente similar a la PCE, excepto la ausencia de eritrodoncia (Piñol Aguadé y col., 1969), pero desde el punto de vista bioquímico el patrón de excreción de porfirinas urinarias y fecales es similar al observado en la PCT, con excesivas cantidades de Uro, Firia e Isocopro (Eriksen y Eriksen, 1974; Day y Strauss, 1982) y una elevada concentración de Proto en glóbulos rojos (Czarnecki, 1980).

Elder y col. (1981) encontraron una disminución de la URO-D del 92-93% tanto en glóbulos rojos como en fibroblastos de pacientes con PHE con respecto a los controles normales, la que fue confirmada más tarde por de Verneuil y col. (1984) y Lim y Poh-Fitzpatrick (1984). En base a estos resultados, estos autores proponen que la PHE sería la forma homocigota de la PCT.

Hasta el momento han sido descritos sólo 13 casos de PHE (Günther, 1967; Piñol Aguadé y col., 1969, 1975; Hofstad y col., 1973; Simon y col., 1977; Honnigsmann y Reichel, 1979; Czarnecki, 1980; Day y Strauss, 1982; de Verneuil y col., 1984; Lim y Poh-Fitzpatrick, 1984) y uno reciente en una niña de 8 meses (Mascaró, 1985).

V.11.1. Referencias

- Czarnecki, D. Arch. Dermatol. 116 (1980) 307.
- Day, R. & Strauss, P. Arch. Dermatol. 118 (1982) 663.
- de Verneuil, H.; Beaumont, C.; Deybach, J.; Nordmann, Y.; Sfar, Z. & Kastally, R. Am. J. Hum. Genet. 36 (1984) 613.
- Elder, G.; Smith, S.; Herrero, C.; Mascaró, J.; Lecha, M.; Muntesa, A.; Czarnecki, D.; Brennan J.; Poulos, V. & de Salamanca, R.E. Lancet (1981) 916.
- Eriksen, L. & Eriksen, N. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 33 (1974) 323.
- Günther, W. Aust. J. Derm. 9 (1967) 23.
- Hofstad, F.; Seip, M. & Eriksen, L. Acta Paediatr. Scand. 62 (1973) 380.
- Honigsmann, H. & Reichel, K. Hautzart 30 (1979) 95.
- Lim, H. & Poh-Fitzpatrick, M. J. Am. Acad. Dermatol. 11 (1984) 1103.
- Mascaro, J. (1985) Comunicación personal Dra. Battle.
- Piñol Aguadé, J.; Castells, A.; Indacochea, A. & Rodes, J. Br. J. Dermatol. 81 (1969) 270.
- Piñol Aguadé, J.; Herrero, C.; Almeida, ; Castellanos, A.; Ferrando, J.; Asprer, J. de.; Palou, A. & Giménez, A. Ann. Dermatol. Syphilol 102 (1975) 129.
- Simon, N.; Berko, G. & Schneider, I. Br. J. Dermatol. 96 (1977) 663.

V.12. INTOXICACION POR PLOMO

La intoxicación por plomo, conocida también como "plumbismo" o "saturnismo", fue descripta hace más de 2000 años por el médico y poeta griego Nicander (Batlle y col., 1981) y ha sido reconocida como la causa de una porfirinuria desde fines del siglo XIX (Goldberg, 1968).

En nuestro país, la intoxicación por Pb es la enfermedad profesional más frecuente debido a la gran utilización de este metal en la industria.

Las vías principales de entrada de los compuestos inorgánicos plúmbicos son la inhalación de vapor, humo, polvo o niebla a través del tracto respiratorio y la ingestión de compuestos de Pb introducidos en la boca con la comida, cigarrillos, herramientas, dedos u otros objetos a través del tracto digestivo.

La presencia de vapores, humo o polvo fino de compuestos inorgánicos de Pb en el aire respirado por los trabajadores y las personas que habitan en las cercanías de las fábricas es la principal vía de intoxicación, si bien la ingestión de compuestos de Pb es una ruta importante (Calabrese y Astolfi, 1980).

V.12.1. Sintomatología

Los síntomas característicos de la intoxicación por Pb se agrupan en cuatro grandes síndromes: neuropsiquiátrico, gastrointestinal, hematológico y urinario (Bustos, 1983).

El síndrome neuropsiquiátrico incluye irritabilidad, vómitos, convulsiones, encefalopatía hipertensiva, coma, parestias y parálisis, cefaleas persistentes, psicopatías diversas, impotencia sexual, frigidez, astenia, insomnio y neuritis óptica.

El síndrome gastrointestinal puede estar dado por constipación pertinaz, cólicos abdominales, dolores espasmódicos difusos, ribete gingival y manchas yugales, dispepsias, inapetencia, síndrome pseudoulceroso.

Desde el punto de vista hematológico puede observarse

anemia microcítica e hipocrómica y punteado basófilo en GR.

En cuanto al síndrome urinario, los riñones son afectados por el Pb, pudiendo observarse oliguria, proteinuria y cilindruria en adultos (Haeger-Arönsen, 1960), además de glucosuria, aminoaciduria y fosfaturia.

El Pb puede transferirse desde la placenta al feto en diferentes etapas de la gestación, comenzando en las primeras 12 ó 13 semanas, habiéndose encontrado concentraciones de Pb que variaban entre 10 y 30 mg/dl en el cordón umbilical de algunos recién nacidos (Singh y col., 1978). Además, los niños expuestos al Pb presentan dificultades en el aprendizaje del nombre de los objetos, en la memoria visual y en la conceptualización, observándose un pico de incidencia en niños de 1 a 3 años de edad (Bustos, 1983).

La deficiencia de hierro, que es una insuficiencia nutricional muy común en los niños, generalmente acompaña la intoxicación por Pb infantil (Six y Goyer, 1972), constituyendo un poderoso agravante, ya que el hierro aumenta la retención de Pb, tanto en tejidos blandos como en huesos.

V.12.2. Características bioquímicas

El Pb inhibe las enzimas sulfhidríticas o dependientes de grupos -SH para su actividad, ejerciendo su mayor acción sobre ALA-D, CPG-asa y Ferroquelatasa (Kreimer-Birnbaum y Grinstein, 1965).

En 1880, Binniendijk observó porfirinas en la orina de un intoxicado con Pb, lo cual fue reproducido en forma experimental en conejos (Stokvis, 1895).

Recién en 1957, Haeger-Arönsen encontró aumentada la excreción urinaria de ALA en trabajadores que estaban en contacto con Pb, mientras que la excreción de PBG era normal o estaba ligeramente aumentada. Los niveles elevados de ALA urinario se deben a la inhibición del ALA-D, la cual se encuentra inhibida entre un 80-100% (Wada, 1976).

Si bien la porfirinuria de la intoxicación con Pb es debida a Copro III, también se observó Uro I en pacientes con saturnismo (Bashour, 1954).

La inhibición de la Ferroquelatasa produce la acumulación de Proto, la que se encuentra quelada con Zn y circula en GR (Lamola y Yamane, 1974).

En la intoxicación por Pb el metal se une al ALA-D a través de los grupos -SH proteicos, habiéndose encontrado una correlación lineal entre el contenido de Pb en sangre, el logaritmo de la actividad del ALA-D sanguínea y el contenido de ALA urinario (Wada, 1976).

V.12.3. Control y tratamiento

El Pb es un tóxico acumulativo y se libera muy lentamente sólo cuando ha cesado su exposición, por lo tanto es fundamental la inmediata separación del paciente de la fuente contaminante.

El método de detoxificación más divulgado es la administración de agentes quelantes. Estos quelantes forman con los metales complejos solubles en agua, que se eliminan rápidamente por vía renal. El CaNa_2EDTA y la D-penicilamina resultaron ser dos quelantes efectivos (Doss, 1978; Pedersen, 1978). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que estos agentes pueden disminuir la concentración de ciertos biometales esenciales para el organismo, lo cual se compensa por la administración exógena de los mismos (Bustos, 1983). La D-penicilamina, además, interfiere con la vitamina B_6 , por lo tanto se suele administrar dicha vitamina diariamente durante el tratamiento con el antibiótico.

Si bien el CaNa_2EDTA se considera más efectivo que la D-penicilamina, éste debe administrarse parenteralmente y no puede utilizarse si hay daño renal (Calabrese y Astolfi, 1980).

Para terapias prolongadas se prefiere la D-penicilamina por cuanto se suministra por vía oral y posee baja toxicidad (Hapke y Pryge, 1973).

En niños se recomienda el tratamiento con BAL (dimercaptopropanol), previo a la administración de EDTA. El BAL posee 2 grupos -SH que son los que interaccionan con el metal.

Recientemente se ha establecido que la terapia por reemplazo enzimático es un nuevo y prometedor enfoque terapéutico

(Batlle y col., 1983).

El encapsulamiento del ALA-D en un carrier adecuado para su administración exógena, como terapia en aquellas porfirias en las cuales esta enzima está bloqueada o es deficiente ha sido el fundamento del tratamiento (Bustos y col., 1980, 1983 ; Espínola y col., 1983).

Esta terapia por reemplazo enzimático se aplicó por primera vez en un caso humano de intoxicación crónica por Pb. El paciente, de 43 años de edad, enfermo desde hacía 19 años, no había respondido a ninguno de los tratamientos comunes con quelantes. Se prepararon fantasmas de GR, con 500 ml de su propia sangre cargados con ALA-D purificada proveniente de 3 l de sangre humana, que se le administraron por transfusión venosa. El proceso total llevó 10 horas, y ya a la hora de iniciado el tratamiento, el paciente presentó mejoría clínica y bioquímica y total recuperación a los 2 días, sin haber habido recidiva en casi dos años (Batlle y col., 1983).

Recientemente, se ha ensayado también en nuestro laboratorio, la administración de S-adenosilmetionina (SAM) en el tratamiento de la intoxicación por Pb. Dicha terapia fue utilizada con buenos resultados, tanto en ratones intoxicados con Pb (aguda y crónica) (Paredes y col., 1985 a), como en 5 pacientes con intoxicación crónica (Paredes y col., 1985 b). En ambos casos se recuperó la actividad del ALA-D, aumentaron los niveles de GSH y disminuyó la concentración de Pb en GR, también se observó mejoría clínica, indicando que la terapia con SAM es muy útil en el tratamiento de la intoxicación por Pb. Si bien el mecanismo de acción del SAM no se conoce se le atribuye un papel importante en cuanto al aumento de la disponibilidad del GSH, cuya concentración se encuentra reducida en la intoxicación por Pb.

V.12.4. Referencias

- Bashour, F. J. Lab. Clin. Med. 44 (1954) 764.
- Batlle, A.; Magnin, P. & Wider, E. en: "Porfirinas y Porfirias. Etiopatogenia, Clínica y Tratamiento" (1981) EUDEBA.
- Batlle, A.; Bustos, N.; Stella, A.; Wider, E.; Conti, H. & Méndez, A. Int. J. Biochem. 15 (1983) 1261.
- Binniendijk, (1880) citado por Stovkis (1895).
- Bustos, N.; Stella, A.; Wider de Xifra E. & Batlle, A. Int. J. Biochem. 12 (1980) 745.
- Bustos, N.; Stella, A.; Wider, E. & Batlle, A. Int. J. Biochem. 15 (1983) 447.
- Bustos, N. Trabajo de Tesis (1983), UBA.
- Calabrese, E. & Astolfi, M. en: "Toxicología" (1980) 131 (Ed. Kapeluz).
- Doss, M. en: "International Symposium Clinical Biochemistry" (1978) Springer-Verlag, Berlín- Heildelberg, New York.
- Espínola, L.; Wider, E.; Stella, A. & Batlle, A. Int. J. Biochem. 15 (1983) 439.
- Goldberg, A. Senim. Hematol. 5 (1968) 424.
- Haeger-Arönsen, B. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 9 (1957) 211.
- Haeger-Arönsen, B. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 12 (1960) 47.
- Hapke, H. & Pryge, E. Arch. Toxicol. 31 (1973) 153.
- Kreimer-Birnbaum, M. & Grinstein, M. Biochim. Biophys. Acta 111 (1965) 110.
- Lamola, A. & Yamane, T. Science 186 (1974) 936.
- Paredes, S.; Kozicki, P. & Batlle, A. Comp. Biochem. Physiol. (1985 a) en prensa.
- Paredes, S.; Juknat de Geralnik, A.; Batlle, A. & Conti, H. Int. J. Biochem. 17 (1985b) 625.
- Pedersen, R. J. Urol. Nephrol. 12 (1978) 189.
- Singh, N.; Donovan, C. & Hanshaw, J. J. Pediatrics 93 (1978) 1019.
- Six, M. & Goyer, R. J. Lab. Clin. Med. 79 (1972) 128.

- Stokvis, B. Zach. Klin. Med. 28 (1895) 1.
- Wada, O. Arch. Envirom. Health 31 (1976) 211.

C A P I T U L O V I

PORFIRIA EN ANIMALES

VI. PORFIRIA EN ANIMALES

VI.1. INTRODUCCION

Las porfirias hereditarias, como ya vimos en el Capítulo V, son consecuencia de fallas metabólicas congénitas que se presentan tanto en humanos como en algunos animales domésticos. Sin embargo en las ardillas (*Sciurus niger*) esta condición es un estado normal y no un error metabólico (With, 1980).

Se ha observado porfiria en ganado vacuno, cerdos, gatos y perros. Todos los casos descritos salvo uno de PPE bovina, son del tipo PCE (With, 1980); es decir hasta ahora no se han encontrado casos de porfirias hepáticas hereditarias en animales.

Regularmente, suelen encontrarse trazas de porfirinas en los plumones de pájaros jóvenes (Derrien, 1924) y en concentraciones mayores en los de Turacos (Musophagidae) (Church 1869, 1892; Rimington, 1939), en búhos, chotacabras y abutardas (Volker, 1938; Thiel, 1968; With, 1978).

VI.2. *Sciurus niger* COMO MODELO ANIMAL DE PCE HUMANA

Fue de gran importancia la observación hecha por los granjeros de Pensilvania de que la ardilla roja (*Sciurus niger*) ampliamente distribuida en los bosques de América del Norte, tenía los huesos rojos. Esto llevó a Turner (1937) a estudiar los huesos de mamíferos, reptiles y anfibios provenientes del Museo Carnegie de Pittsburgh, encontrando huesos rojos sólo en *Sciuridae* y determinó que la fluorescencia roja de los huesos y la orina se debía a la presencia de Uro I.

Luego de los primeros trabajos de Turner, recién en 1971, Levin y Flyger midieron la actividad de la Isomerasa en hemolizados y extractos de distintos tejidos de la ardilla confirmando que la actividad estaba reducida en corazón, hígado, bazo, riñón, eritrocitos y médula ósea de las ardillas rojas con respecto a los niveles observados en las ardillas grises (Levin y Flyger, 1973).

En las ardillas rojas no se observó anemia hemolítica

ni fotosensibilidad aún luego de quitarles la piel protectora y exponerlas a la luz, mientras que las sangrías aumentaron considerablemente la concentración de porfirinas en sangre y orina (With, 1980).

Es interesante destacar que el comportamiento cinético del sistema Deaminasa-Isomerasa eritrocitaria de las ardillas rojas fue similar al observado en la PCE humana y bovina. Por ello se considera a la *Sciurus niger* como un excelente modelo animal, útil para el estudio de la PCE (Levin, 1974; Flyger y Levin, 1977).

VI.3. PORFIRIA EN GATOS

El primer caso registrado de porfiria en gatos se debe a Tobías (1964). Un gato, de tres meses y medio presentaba dientes temporarios marrones fluorescentes y orinas oscuras. Sin embargo, los dientes permanentes, resultaron ser más brillantes que los temporarios, no presentaban fluorescencia. Las orinas contenían PBG, Uro y Copro. Observaciones realizadas en la madre, los hermanos de la misma cría y de una anterior, indicaron que algunos gatos de ambas crías tenían dientes coloreados, sugiriendo una herencia dominante.

Posteriormente, la madre del gato estudiado por Tobías se apareó con 4 machos sanos, obteniéndose 58 descendientes en 12 crías (Glen y col., 1968). La transmisión de la anomalía genética resultó ser autosómica dominante. El esqueleto de los gatos porfíricos recién nacidos tenía un color amarronado y presentaba fluorescencia roja bajo la luz UV.

Los gatos porfíricos excretaban grandes cantidades de PBG, Uro y Copro en orina mientras que en los GR estaban elevadas las concentraciones de Proto, Copro, y en menor porcentaje, Uro (Levin, 1975).

La Isomerasa eritrocitaria y de otros tejidos resultó ser normal (Levin, 1975) mientras que la actividad de ALA-S se encontró disminuía en médula ósea (Livingstone, 1971).

Otros tres casos de PCE fueron observados en una gata siamesa, y en dos gatos de sus crías (Giddens y col., 1975). En estos animales se encontraron elevadas las concentraciones de Uro en orina y Uro y Proto en GR y huesos. Estos animales

afectados presentaban severa anemia hipocrómica macrocítica, evidencias de hemólisis e insuficiencia renal crónica.

VI.4. PORFIRIA EN GANADO VACUNO

Las primeras observaciones de huesos rojos en el ganado vacuno datan del año 1883 (Poulsen, 1910; Schmey, 1913; Fourie, 1936; Koller, 1942). Sin embargo, es común ahora que aparezcan con frecuencia huesos rojos en los grandes mataderos europeos (With, 1980).

Inicialmente esta condición fue llamada "ocronosis", en la cual sólo los cartílagos están coloreados; sin embargo, observaciones posteriores indicaron que también las estructuras óseas presentaban color (Poulsen, 1910), reemplazando el nombre inicial por "osteohemocromosis (Schmey, 1913).

En un principio se pensó que la coloración roja era debida a melanina o a un derivado de hemoglobina, pero Poulsen observó que los tejidos tenían un bajo contenido en hierro y que las sustancias extraídas por los métodos comunes para porfirinas presentaban un espectro de absorción semejante al de la hematoporfirina (Moller Sorensen, 1920). Los estudios en médula ósea indicaron una alta concentración de hemosiderina y eritroblastos, observándose además una elevada destrucción de eritrocitos (Poulsen, 1910).

Fourie (1936) fue el primero en describir clínicamente la PCE en vacas de la raza Shorthorn en Sud-Africa. El síntoma más característico del ganado era la dentición coloreada, por lo que Fourie llamó a esta enfermedad "diente rosa" (pinktooth). Simultáneamente, Rimington (1936) estudió el contenido de porfirinas en las excretas y diversos tejidos. El cuadro bioquímico encontrado en estos animales (Rimington y col., 1938; Fourie y Roets, 1939) fue semejante al de la PCE humana (Günther, 1911; Fischer y col., 1925; Börst y Königsdorffer, 1929).

En Sud-Africa también fue descripto un caso de PCE en una vaca de raza Friesland (Fourie y Rimington, 1938; Fourie, 1939, 1943).

De los estudios genéticos del ganado sudafricano surgió que la enfermedad se transmitía en forma recesiva.

En Dinamarca también fue descripta la PCE en ganado Shorthorn (Jørgensen y With, 1955, 1963, 1965; Jørgensen, 1961 a y b); los estudios genéticos también demostraron que dicha enfermedad se transmitía en forma recesiva, confirmando los trabajos en Sud-Africa.

Uno de los toros porfíricos de With fue objeto de un estudio completo de las enzimas del camino metabólico del hemo realizado por Batlle y col (1979).

En Inglaterra, los primeros animales observados con los síntomas de Porfiria Congénita también fueron de la raza Shorthorn en los alrededores de Buckinghamshire (Amoroso y col., 1957; Rimington, 1959) y de Cambridge (Ross, 1957).

Las primeras observaciones de ganado porfírico en EEUU, datan del año 1939 (With, 1980) y de 1958 en Jamaica (Nestel, 1958).

La intensidad de los síntomas en el ganado con PCE resultó variar considerablemente de un caso a otro. Generalmente, los terneros afectados presentaban problemas en el desarrollo, especialmente luego del destete. Los principales síntomas eran fotosensibilidad, anemia y orina rojiza (With, 1980).

En el ganado danés, además de los problemas de crecimiento se observó una alteración en la fertilidad de los animales, especialmente en las vacas (Jørgensen, 1961 a).

La mayoría de los terneros recién nacidos presentaban anemia y severa acidosis metabólica (Kaneco y Mills, 1970; Moore, 1970) y los animales de climas cálidos desarrollaban lesiones dermatológicas fotosensibles.

La anemia resultó ser de tipo hemolítico y la reticulocitosis correspondía al grado de anemia observado (Wass y Hayt, 1965 a y b).

La fotosensibilidad se observó limitada a las zonas de la piel desprotegida o cubierta por pelos blancos, alrededor de los ojos, hocico, y a veces, sobre encías y labios (Watson y col., 1959; Jørgensen, 1961 b). Es interesante destacar que las lesiones se tornan más importantes con la mayor exposición a la luz solar, desapareciendo cuando los animales se protegen de la luz.

La excreción de porfirinas urinarias varía de acuerdo

a la severidad de la enfermedad. En los casos leves la orina fresca tenía aspecto normal tornándose coloreada con el estacionamiento debido a la oxidación de los porfirinógenos a porfirinas. La mayoría de las porfirinas urinarias se excretan en forma de porfirinógenos (Batlle y col., 1979); esta observación fue comprobada en uno de los toros porfíricos daneses donde se observó que a las 3 horas de haberle practicado la autopsia, la orina extraída directamente de la vejiga contenía 700 μg de porfirinas por ml y 24 horas después este valor se elevó a 1.600 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

La concentración de porfirinas urinarias varía considerablemente de animal a animal y también en un mismo animal (Fourie y Roets, 1939; Jørgensen, 1961 b; Chu y Chu, 1962; Jørgensen y With, 1963, 1965) con predominio de Uro (85-90%), tipo isomérico I (Chu y Chu, 1962). Además de Uro y Copro, la orina contenía un 10% de Penta y trazas de Hexa y Firia (Chu y Chu, 1962; With, 1969 b; Rimington y With, 1973).

En bilis se observó principalmente la presencia de Copro acompañada en algunos casos de pequeñas cantidades de Uro (Jørgensen, 1961 b). La cromatografía de las porfirinas fecales esterificadas indicaron que contenían 90% de Copro I, Penta y trazas de Uro, Proto y tricarboxílica (Rimington y With, 1973) variando su concentración entre 5 y 675 $\mu\text{g}/\text{g}$ seco (Jørgensen, 1961 b).

Son interesantes los estudios realizados por Jørgensen (1961 b), Chu y Chu (1962) y Jørgensen y With (1963, 1965) relacionados con el desarrollo del animal y la concentración de las porfirinas en el esqueleto del ganado porfírico. Así es que se observó una alta concentración de porfirinas en los huesos de los fetos de 2 a 4 meses (130-140 $\mu\text{g}/\text{g}$) que disminuye entre el 5º y 7º mes de gestación (35 $\mu\text{g}/\text{g}$), aumenta en el nacimiento (155-470 $\mu\text{g}/\text{g}$) presentando también un incremento entre los 9 a 15 primeros meses de vida del ternero (21-354 $\mu\text{g}/\text{g}$) y varía en el animal adulto (6-150 $\mu\text{g}/\text{g}$). La concentración de porfirinas varía considerablemente en los diferentes huesos de un mismo animal (Jørgensen, 1961 b) encontrándose principalmente Uro, acompañada de cantidades menores de Penta, Hexa y Firia (Chu y Chu, 1962; With, 1969 a).

En cuanto a las porfirinas sanguíneas, Rimington (1936) cristalizó el éster de Copro I de sangre, plasma y GR no en-

contrando Proto eritrocitaria. Sin embargo, la sangre de animales con PCE estudiados por Watson y col (1959) presentaban un alto contenido de Proto acompañada de cantidades menores de Copro y Uro (Chu y Chu, 1962; Kaneko y Matthews, 1966; Batlle y col., 1979).

Rimington (1936) estudió las porfirinas de varios órganos encontrando Uro I y Copro I en médula ósea, Uro I en bazo y pequeñas cantidades de un complejo de Uro I con Cu en hígado. De los estudios de Watson y col. (1959) relacionados con un caso de PCE bovina se encontró en bazo una alta concentración de Uro (1.296 $\mu\text{g/g}$) y en menor porcentaje Proto (462 $\mu\text{g/g}$) y Copro (40 $\mu\text{g/g}$), mientras que en hígado el contenido de porfirinas era relativamente bajo: Proto (79 $\mu\text{g/g}$), Copro (24 $\mu\text{g/g}$) y trazas de Uro. Chu y Chu (1962) encontraron normales el contenido de porfirinas hepáticas en animales con PCE. With estudió distintos órganos de un toro porfírico observando en médula ósea grandes cantidades de Uro y trazas de Copro; en huesos, elevadas concentraciones de Copro y Uro con trazas de Penta, Hexa y Firia; en riñón Uro y trazas de Copro; en glándulas adrenales, grandes cantidades de Uro y Copro y en menor proporción Proto, Penta y trazas de Hexa, Firia y tricarboxílicas; en bazo, Uro y trazas de Copro; en testículos, trazas de Uro; en glándulas salivares y lacrimales Uro, Copro y trazas de Penta, Firia y tricarboxílica. No encontró porfirinas en médula espinal, cerebro o corazón.

Son destacables los estudios enzimáticos realizados en los animales con PCE. Smith y Kaneko (1965, 1966) observaron una menor incorporación de glicina ^{14}C a Proto y hemo, acumulándose el ^{14}C en la Copro de eritrocitos inmaduros. Se observó que la actividad de la Isomerasa estaba disminuida en los hemolizados de animales porfíricos y también en los carriers, comparados con los normales (Levin, 1968; Romeo y col., 1970).

Los estudios realizados por Batlle y col. (1979) en distintos órganos y GR provenientes de un toro con PCE y de toros normales parecen indicar que en médula ósea, el sitio de mayor expresión de la anormalidad genética, habría un gran incremento de la actividad de Deaminasa acompañado de una deficiencia de la Isomerasa además de una elevada actividad de ALA-S como así también de la Suc.CoA-S, mientras que la acti

vidad del ALA-D resultó ser normal. Las actividades de ALA-S y ALA-D sanguínea presentaron un ligero incremento y una disminución en la actividad de PBG-asa. En hígado, el ALA-S resultó ser normal y la PBG-asa menor que en animales normales.

Schwartz y col. (1978 a y b) observaron un nuevo tipo de porfiria en ganado a la que llamaron "Protoporfiria hereditaria". Los animales porfíricos eran 4 terneros que desarrollaron gran fotosensibilidad durante las primeras semanas de vida. Las madres, aparentemente normales, habían sido preñadas por un toro sin sintomatología clínica; por lo que la enfermedad se heredaría en forma recesiva. El color de la orina y de los dientes era normal y no fluorescían bajo la luz UV y tampoco se observó anemia. Los estudios bioquímicos mostraron una alta concentración de Proto en eritrocitos y heces como así también en hígado, corazón, riñón, bazo y pulmón. Tanto en estos tejidos como en médula ósea y cultivos de fibroblastos de piel se observó, como era de esperar, una marcada disminución en la actividad de la Ferroquelatasa. La actividad de la Ferroquelatasa hepática en los terneros resultó estar disminuída un 15% y en las vacas madre un 50%. El ALA-S se quintuplicó en los terneros y se duplicó en las vacas madre.

VI.5. PORFIRIA EN CERDOS

En 1911, Ingier, describió un caso de "ocronosis" en un cerdo recién faenado de un año de edad. El animal no presentaba síntomas dermatológicos, mientras que los huesos estaban coloreados, principalmente los huesos largos y el cráneo.

Casos similares fueron descriptos por Schmey (1913), Tentschländer (1914) y von Deseo (1924).

Los primeros casos de animales porfíricos en pie datan de 1944 y 1951, en Nueva Zelandia (Clare y Stephens, 1944) y de Dinamarca respectivamente; con estos animales se realizaron distintos apareamientos del estudio de los cuales surgió que la enfermedad se transmitía con un rasgo dominante.

Es interesante y anecdótico destacar la observación realizada en un matadero de Dinamarca por el veterinario

Jørgensen en 1951. La aparición en el matadero de cerdos con huesos de color rojo redujo la cotización de los mismos en el mercado de carnes (Jørgensen y With, 1955; Jørgensen, 1959). Con el objeto de solucionar el problema el veterinario propuso a los granjeros no utilizar en el apareamiento los cerdos con dientes oscuros, ya que se había visto que la enfermedad se heredaba con un carácter dominante. Con el transcurso del tiempo la coloración marrón de los huesos de los animales fue disminuyendo gradualmente, observándose el último caso en 1954 (With, 1980).

With y col. (1959) realizaron un amplio estudio con 2 cerdos porfíricos de este último grupo y encontraron que la enfermedad se heredaba en forma dominante. Así se vió que de una cría de 65 cerdos, 33 eran porfíricos. Los dientes de los animales porfíricos recién nacidos presentaban una fuerte fluorescencia. Las porfirinas dentales estaban localizadas principalmente en la dentina; la concentración del pigmento en el diente disminuía con el crecimiento de los mismos. Basándose en este estudio los autores tomaron como parámetro porfírico del cerdo recién nacido la concentración de porfirinas dentarias; consideraron animales porfíricos aquellos que tenían una concentración igual o mayor a 15 $\mu\text{g/g}$ diente y normales en los casos en que tenían una concentración menor de 5 $\mu\text{g/g}$ diente. En el animal adulto, el contenido de porfirinas del esqueleto y dientes variaba entre los distintos huesos y dientes dependiendo del animal (With, 1955). En ningún caso se observó fotosensibilidad en cerdos porfíricos.

La excreción de porfirinas urinarias variaba según el animal se desarrollaba; era muy baja a los 3 meses de edad, se incrementaba al 4º y 5º mes de vida, especialmente el contenido de Uro aunque también se encontraron cantidades sustanciales de Penta, Hexa y Firia. En este aspecto la porfiria porcina difiere a la encontrada en ganado vacuno. Estudios realizados en los órganos de la región abdominal mostraron que el bazo presentaba una marcada fluorescencia roja mientras que ésta era leve en el pulmón.

VI.6. PORFIRIA EN PERROS

Owen y col.(1962) describieron un perro de 7 meses con dientes permanentes de color rosado que fluorescían bajo la luz UV. Los dientes de los padres y hermanos de la misma cría eran normales y no presentaban fluorescencia. Es interesante destacar que estas características desaparecían con el crecimiento del animal y la excreción de porfirinas urinarias fue siempre normal.

Esta condición observada en el perro es semejante a la de los gatos y algunos cerdos, en los cuales no se presentan síntomas clínicos a excepción de la coloración dentaria, la cual desaparece gradualmente con el desarrollo del animal.

VI.7. REFERENCIAS

- Amoroso, F.; Loosmore, R.; Rimington, C. & Tooth, B. Nature (London) 180 (1957) 230.
- Batlle, A.; Wider de Xifra, E.; Stella, A.; Bustos, N. & With, T. Clinical Science 57 (1979) 63.
- Borst, M. & Königsdorffer, H. Untersuchungen über Porphyrin (1929) Leipzig: S. Hirzel.
- Clare, T. & Stephens, E. Nature (London) 153 (1944) 252.
- Chu, T. & Chu, E. Biochem. J. 83 (1962) 318.
- Church, A. Proceedings of the Royal Society (Philosophical Transactions) 159 (1869) 627.
- Church, A. Proceedings of the Royal Society (Philosophical Transactions) 183 A (1892) 511.
- Derrien, E. Comptes Rendus de la Société de Biologie, Paris 91 (1924) 634.
- Fischer, H.; Hilmer, H.; Lindner, F. & Pützer, B. Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie 150 (1925) 44.
- Flyger, V. & Levin, E. American J. Pathology 87 (1977) 269.
- Fourie, P. Onderstepoort J. Veterinary Science and Animal Industry 7 (1936) 535.
- Fourie, P. Onderstepoort J. Vet. Res. 2 (1936) 535 .
- Fourie, P. Onderstepoort J. of Veterinary Science and Animal Industry 13 (1939) 383.
- Fourie, P. Onderstepoort J. of Veterinary Science and Animal Industry 18 (1943) 305.
- Fourie, P. & Rimington, G. Onderstepoort J. of Veterinary Science and Animal Industry 10 (1938) 431.
- Fourie, P. & Roets, G. Onderstepoort J. of Veterinary Science and Animal Industry 13 (1939) 369.
- Giddens, W.; Labbe, R.; Swango, L. & Padgett, G. Am. J. Pathol. 80 (1975) 367.
- Glenn, B.; Glenn, H. & Omtvedt, I. Amer. J. Vet. Res. 29 (1968) 1653.
- Goldberg, A. & Rimington, C. en: "Diseases of Porphyrin Metabolism III (1962) Thomas, Ch., Springfield.

- Günther, H. Deutsches Archiv. fur Klinische Medizin 105 (1911) 89.
- Ingier, A. Zieglers Beiträge zur Pathologischer Anatomie 51 (1911) 199.
- Jørgensen, S. British Vet. J. 115 (1959) 160.
- Jørgensen, S. British Vet. J. 117 (1961 a) 1.
- Jørgensen, S. British Vet. J. 117 (1961 b) 61.
- Jørgensen, S. & With, T. Nature (London) 170 (1955) 156.
- Jørgensen, S. & With, T. Annals of the N.Y. Acad. of Sciences 104 (1963) 701.
- Jørgensen, S. & With, T. en: "Comparative Physiology and Pathology of the skin" (1965) 317. (Ed. A. Rook y G. Watton) Oxford:Blackwell.
- Kaneko, J. & Mattheuws, D. Am. J. Vet. Research 27 (1966) 923.
- Kaneco, J. & Mills, R. Cornell Veterinarian 60 (1970) 52.
- Koller, R. Tierärztliche Rundschau 48 (1942) 77.
- Levin, E. Science 161 (1968) 907.
- Levin, E. Ann. N. Y. Acad. Sci. 241 (1974) 347.
- Levin, E. Ann. N. Y. Acad. Sci. 244 (1975) 481.
- Levin, E. & Flyger, V. Science 174 (1971) 59.
- Levin, E. & Flyger, V. J. of Clin. Invest. 52 (1973) 96.
- Livingstone, J. Ph.D. Thesis, Oklahoma State University (1971).
- Møller Sørensen, A. en: "Den Kgl. Veterinaer-og landbohø y skoles" (1920) 122 Aarsskrift, Copenhagen.
- Moore, M. Am. J. Vet. Research 31 (1970) 1561.
- Nestel, B. Cornell Veterinarian 48 (1958) 430.
- Owen, L.; Stevenson, D. & Keilin, J. Research in Vet. Science 3 (1962) 139.
- Poulsen, V. Medical Dissertation, University of Copenhagen (1910) pag. 197.
- Rimington, C. Onderstepoort J. of Vet. Scie. and Animal Industry 7 (1936) 567.

- Rimington, C. Proceedings of the Royal Society B. 127 (1939) 106.
- Rimington, C. Proc. R. Soc. Medicine 62 (1959) 963.
- Rimington, C.; Roets, G. & Fourie, P. Onderstepoort J. of Veterinary Science and Animal Industry 10 (1938) 421.
- Rimington, C. & With, T. Danish Med. Bull. 20 (1973) 5.
- Romeo, G.; Glenn, B. & Levin, E. Biochemical Genetics 4 (1970) 719.
- Ross, B. Veterinary Record 63 (1957) 345.
- Schmey, M. Frankfurter Zeitschrift für Pathologie 12 (1913) 218.
- Schwartz, S.; Stephenson, B. & Ruth, G. J. Clin. Chem. Biochem. 16 (1978 a) 71.
- Schwartz, S.; Stephenson, B. & Ruth, G. en: "Diagnosis and Therapy of Porphyrrias and Lead Intoxication" (1978 b) 264. (Ed. M. Doss) Berlin, Springer-Verlag.
- Seawright, A. & Watt, D. Aust. Vet. J. 48 (1972) 35.
- Smith, D. & Kaneko, J. Life Sciences 4 (1965) 1745.
- Smith, D. & Kaneko, J. Am. J. Vet. Research 27 (1966) 931.
- Teutschländer, O. Virchows Archir für Pathologische Anatomie 217 (1914) 293.
- Thiel, H. Zoologisches Jahrbuch 95 (1968) 147.
- Tobias, G. J. Amer. Vet. Med. Ass. 145 (1964) 462.
- Turner, W. Journal of Biological Chemistry 118 (1937) 519.
- Völker, O. Jornal für Ornithologie (Leipzig) 86 (1938) 436.
- Von Deseö, D. Biochemische Zeitschrift 149 (1924) 190.
- Wass, W. & Hoyt, H. Am. J. Vet. Research 26 (1965 a) 654.
- Wass, W. & Hoyt, H. Am. J. Vet. Research 26 (1965 b) 659.
- Watson, C.; Perman, V.; Spurreli, F.; Hoyt, H. & Schwartz, S. Trans. Assoc. Am. Physicians 71 (1958) 196.
- Watson, C.; Perman, V.; Spurrel, F.; Hoyt, H. & Schwartz, S. AMA Arch. Int. Med. 103 (1959) 436.
- With, T. Biochem. J. 60 (1955) 703.

- With, T. Zeitschrift für Klinische Chemie und Klinische Biochemie 7 (1969 a) 130.
- With, T. Danish Med. Bull. 16 (1969 b) 703.
- With, T. Int. J. Biochem. 9 (1978) 893.
- With, T. Clinics in Haematology 9 (1980) 345.
- With, T.; Clausen, H. & Højgaard-Olsen, J. en: "310th report from the Danish State Agriculture Experiment Station (1959) Rolighedsvej, Copenhagen.

C A P I T U L O V I I

PORFIRIA EXPERIMENTAL.

VII. PORFIRIA EXPERIMENTAL

VII.1. INTRODUCCION

Los primeros estudios realizados sobre el efecto de los fármacos en el metabolismo de las porfirinas en animales de experimentación fueron estimulados por la acción porfirinogénica de ciertas drogas administradas terapéuticamente en el hombre.

Con la introducción de los hipnóticos Sulfonal y Trional en la clínica médica, se observaron casos de hematóporfirinuria tóxica en pacientes tratados con estos fármacos (Stokvis, 1889; Harley 1890; Salkowski, 1891; Hammarsten, 1892), y muy pronto se comprobó que el Sulfonal producía porfirinuria en perros y conejos (Stokvis, 1895).

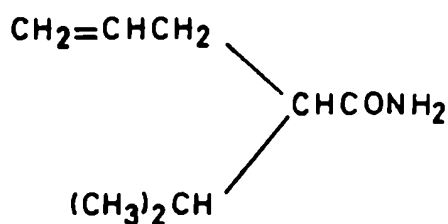
En 1932, Duesberg describió un caso fatal de intoxicación por Sedormid, con síntomas de porfiria aguda, demostrándose años más tarde que esta droga producía porfiria experimental en ratas y conejos (Schmid y Schwartz, 1952) con un cuadro compatible al de las porfirias hepáticas y un patrón de excreción urinario semejante al de la PAI (Schmid y col., 1954).

Estos primeros experimentos culminaron con el descubrimiento realizado por Granick y Urata (1963) y Granick (1966) sobre la importancia del aumento en la actividad del ALA-S hepática en la porfiria inducida por distintos fármacos.

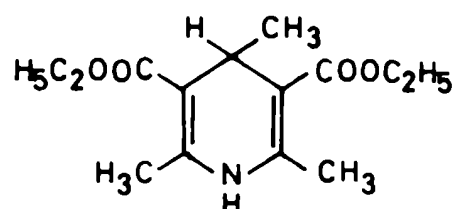
A partir de entonces se han encontrado otros fármacos además del Sedormid y Sulfonal, capaces de inducir porfiria hepática en animales de laboratorio, o en cultivos primarios de hígado de embrión de pollo. Todas estas drogas porfirinogénicas tienen la propiedad de estimular la actividad del ALA-S hepática y también la capacidad de producir el agotamiento del hemo hepático, ya sea por aceleración de su degradación o por inhibición de su síntesis (De Matteis, 1982).

Distintos tipos de fármacos han sido ampliamente estudiados en animales de experimentación y hay evidencias de que algunos de ellos, utilizados en terapéutica humana o que se encuentran como contaminantes del medio ambiente pueden alterar el metabolismo de las porfirinas. Entre estos compuestos po-

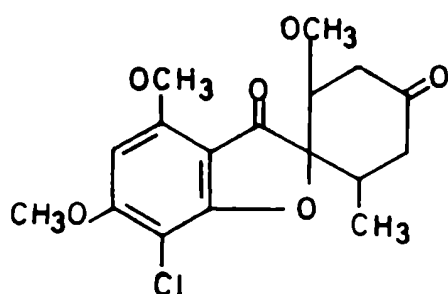
demostramos citar los fármacos no saturados que contienen grupos alilo o etil-alilo en su cadena lateral, como el AIA; las dihidropiridinas, como el DDC; antibióticos como la Griseofulvina y los hidrocarburos polihalogenados como por ejemplo el tan conoucido hexaclorobenceno (HCB) (Figura VII.1.).



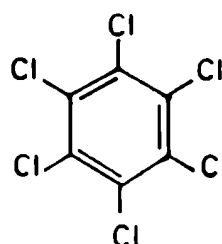
AIA



DDC



Griseofulvina



HCB

Figura VII.1.: *Estructura de los 4 principales compuestos inductores de Porfiria Hepática Experimental.*

Si bien todos estos compuestos originan una sobreproducción hepática de los productos intermedios de la vía metabólica del hemo, existen diferencias significativas tanto en el mecanismo de acción como en el cuadro bioquímico obtenido y la aparición de los síntomas de la porfiria resultante (De Matteis, 1982).

VII.2. PORFIRIA PRODUCIDA POR PRODUCTOS QUIMICOS NO SATURADOS. INDUCCION POR AUMENTO DE LA DESTRUCCION DEL HEMO HEPATICO

Dado que el Sedormid tiene un efecto hipnótico profundo, su utilización no es aconsejable en animales de experimentación. Afortunadamente se pudo obtener un producto análogo, el AIA, prácticamente exento de propiedades hipnóticas y ampliamente efectivo como inductor de porfiria en roedores (Goldberg y col., 1955; Talman y col., 1957). Por ello, el AIA ha sido muy estudiado observándose que su administración a conejos, ratas y ratones provoca una rápida acumulación hepática de ALA, PBG y porfirinas que son excretados por orina, observándose entonces una gran analogía con las características bioquímicas de las porfirias agudas hepáticas humanas.

Dado que el AIA es un potente inductor del ALA-S hepática frecuentemente se lo utiliza para estudiar esta enzima y su regulación por el hemo (Marver y col., 1966; Scholnick y col., 1972; Hayashi y col., 1972; 1980).

Asimismo, se ha ensayado la capacidad para inducir porfiria de otros compuestos químicos vinculados al Sedormid (Goldberg y col., 1955; Stich y Decker, 1955) y de barbitúricos (Goldberg, 1954) llegándose a la conclusión de que la estructura química necesaria para producir la porfiria hepática es una acetamida dialquilsustituída o un ureído cíclico para el caso de los barbitúricos, en los cuales al menos uno de los sustituyentes es un grupo alilo. La razón de que al menos un grupo alilo fuera esencial para la inducción de la porfiria no se dilucidó hasta que se encontró que los fármacos con un grupo alilo no-saturado en la cadena lateral tienen en común la capacidad de promover la degradación del hemo hepático (Abbritti y De Matteis, 1971; Levin y col., 1973).

Se demostró que el AIA produce la pérdida del citocromo P₄₅₀ hepático en los animales tratados (Wada y col., 1968; Waterfield y col., 1969), debido a la destrucción del grupo prostético hemo del citocromo (De Matteis, 1970, 1971; Meyer y Marver, 1971; Levin y col., 1972), que en el proceso se convertía en porfirinas atípicas o pigmentos verdes (De Matteis, 1971; Bonkowsky y col., 1980). Esto fue observado originalmente en el hígado de animales intoxicados con Sedormid (Schwartz e Ikeda, 1955).

Se ha observado también que, además del AIA (Marver y col., 1966), otros fármacos que contienen el grupo alilo es timulan la actividad del ALA-S (Abbritti y De Matteis, 1971). Se ha sugerido que dicha estimulación podría estar relaciona- da con la modificación de la estructura hémica y la consiguien- te pérdida del control normal por retro-inhibición sobre el ALA-S (De Matteis, 1970; Meyer y Marver, 1971).

Se han encontrado, recientemente, otros productos quí- micos insaturados que contienen grupos acetilénicos, incluyen- do esteroides etilen sustituidos y el gas acetileno (White y col., 1977; White, 1978). En forma análoga a los anteriores, estos compuestos pueden provocar la destrucción del citocromo P_{450} con la subsecuente formación de los pigmentos verdes y también estimular el ALA-S hepática. Además, los fármacos con grupos vinilo no-saturados como el Fluoroxeno (2,2,2-trifluor- etilviniléter) y el cloruro de vinilo (Ivanetich y col., 1975; Guengerich y Strickland, 1977) también producen destrucción del citocromo P_{450} hepático .

Con el fin de estudiar la modificación que causan los fármacos no-saturados sobre la estructura del hemo y los me- canismos relacionados es que más recientemente se han purifica- do y caracterizado los pigmentos verdes resultantes (Mc Donagh y col., 1976; De Matteis y Unseld, 1976). Se observó que con- tienen hierro en su forma nativa y por eso se encuentran en el hígado como hemos modificados, los que pierden el metal al ponerse en contacto con ácidos, dando lugar a la porfirina mo dificada (De Matteis y Unseld, 1976; White, 1981; De Matteis, y col., 1982).

Estudios posteriores demostraron que la metabolización del fármaco implica la conversión de la cadena lateral no-sa- turada en un derivado reactivo, por medio de una reacción oxi- dativa dependiente del citocromo P_{450} , y de esta forma el hemo del citocromo se convierte en los pigmentos verdes (Abbritti y De Matteis, 1971; De Matteis, 1971; Levin y col., 1973; Iva- netich y col., 1975; White, 1978). Estos pigmentos surgen del enlace covalente entre los grupos alílicos o acetilénicos de los inductores y el núcleo porfirínico del hemo con una este- quiometría 1 a 1, la cual fue demostrada por la recuperación de la radioactividad del fármaco en el pigmento verde purifi- cado y por espectrometría de masas de los pigmentos verdes re

sultantes (Ortiz de Montellano y col., 1978, 1979). Trabajos posteriores han demostrado que el inductor ataca a uno de los nitrógenos del núcleo porfirínico.

Basándose en distintas líneas de evidencias, se llegó a la conclusión de que los pigmentos verdes producidos por acción de estos inductores no saturados sobre el hemo, son protoporfirinas N-mono-sustituídas (De Matteis y Cantoni, 1979; De Matteis y col., 1980 a; De Matteis y Gibbs, 1980). Se ha demostrado que existe una correlación entre la estimulación del ALA-S y la capacidad de estos fármacos para originar modificaciones irreversibles sobre el hemo del citocromo P_{450} . Sin embargo, no hay evidencias de que sea sólo el hemo del citocromo P_{450} el que controla directamente el ALA-S. Es interesante destacar que el AIA no sólo ejerce su acción sobre la degradación del hemo del citocromo P_{450} , sino que la extiende a otros hemos hepáticos (De Matteis, 1973), incluyendo el hemo exógeno añadido *in vitro* a microsomas hepáticos (Unselid y De Matteis, 1978) o administrado *in vivo* a animales (Correia y col., 1979).

Los pigmentos verdes producidos por los productos químicos no saturados no inhiben la Ferroquelatasa *in vivo* e *in vitro* (De Matteis y col., 1980 b y c) y por esta razón no se produce acumulación de Proto *in vivo*. El leve incremento de Proto hepática en animales de experimentación, así como la acumulación de los precursores ALA y PBG pueden ser el resultado del marcado incremento en la actividad del ALA-S; la acumulación excesiva de precursores excedería la capacidad de las enzimas siguientes en el camino del hemo, con lo que estas actividades enzimáticas se convertirían en limitantes (De Matteis, 1982).

VII.3. PORFIRIA PRODUCIDA POR DIHIDROPIRIDINAS SUSTITUIDAS Y GRISEOFULVINA. INHIBICION DE LA SINTESIS DEL HEMO A NIVEL DE LA FERROQUELATASA

En 1959, Solomon y Figge describieron una forma de porfiria experimental en ratones y cobayos causada por la administración de DDC; este compuesto fue el primero capaz de producir un tipo de porfiria hepática, sin ser una droga como las anteriores ni un derivado de las mismas. Pocos años más tarde

se observó que la Griseofulvina, antibiótico ampliamente utilizado en el tratamiento de infecciones fúngicas en humanos y animales, provocaba una porfiria cuando se administraba a ratones (Weston-Hurst y Paget, 1963; De Matteis y Rimington, 1963). Las porfirias causadas por estos compuestos tienen en común el hecho de producir una gran sobreproducción de Proto que se acumula en hígado y se excreta por heces. Las características bioquímicas semejan la PV humana durante la fase aguda cuando la porfiria inducida por estos compuestos es muy severa. En ratones, hay una gran acumulación de Proto en GR, litiasis biliar y fotosensibilidad (De Matteis, 1967) dando lugar a un síndrome semejante al de la PPE humana (Magnus, 1980).

Tanto el DDC como la Griseofulvina inhiben la Ferroquelatasa hepática (Onisawa y Labbe, 1963; Lochhead y col., 1967; Tephly y col., 1971; De Matteis y Gibbs, 1975); este bloqueo explica la acumulación de Proto. También causan una marcada estimulación secundaria del ALA-S provocada por la disminución en la concentración de hemo regulador causada por la inhibición de la Ferroquelatasa.

En cuanto al mecanismo por el cual el DDC y la Griseofulvina actúan a nivel de la Ferroquelatasa, se ha demostrado que ambos compuestos producen la acumulación hepática de un pigmento verde que actúa inhibiendo directamente la enzima (Tephly y col., 1979, 1981; De Matteis y Gibbs, 1980). Este pigmento deriva del hemo hepático (Tephly y col., 1979; De Matteis y col., 1982) y ha sido identificado como N-metilprotoporfirina (De Matteis y col., 1980 d; Ortiz de Montellano y Kunze, 1981; Tephly y col., 1981); es una protoporfirina modificada que lleva un grupo metilo sobre uno de los átomos del nitrógeno del anillo pirrólico. Se supone que la inhibición enzimática se debe a una fuerte interacción entre la porfirina N-metilada y el centro activo de la enzima (De Matteis y col., 1980 c). Es interesante destacar que los alquilderivados de la Proto o meso porfirina son potentes inhibidores de la Ferroquelatasa (De Matteis y col., 1980 b).

También se ha demostrado la importancia del tamaño del grupo alquílico presente sobre el átomo de nitrógeno del pirrol dado que los radicales n-alquilos mayores al metilo producen una inhibición menor sobre la Ferroquelatasa (De Matteis y col., 1980 b).

Estudios recientes sobre el origen del pigmento inhibidor con microsomas hepáticos y hepatocitos aislados (Ortiz de Montellano y col., 1981; De Matteis y col., 1981) indicaron que la porción porfirínica de la N-metilporfirina proviene del citocromo P₄₅₀ y que el grupo metilo ligado al nitrógeno pirrólico del inhibidor proviene del compuesto inductor (Ortiz de Montellano y col., 1981; De Matteis y col., 1981). Por analogía, puede suponerse que uno de los grupos metilo de la Griseofulvina sea la fuente del N-sustituyente del pigmento verde (De Matteis, 1982).

Podemos concluir que tanto el DDC como la Griseofulvina inducen porfiria hepática mediante un mecanismo en varios pasos donde el primero sería la conversión del hemo del citocromo P₄₅₀ en N-metilporfirina, seguido de una marcada inhibición de la Ferroquelatasa y una estimulación secundaria del ALA-S hepática. Como consecuencia de esto la Proto se acumula en hígado y se produce una porfiria hepática. Se ha obtenido apoyo a este mecanismo inyectando ratones con N-metil-mesoporfirina, comprobándose una inhibición de la Ferroquelatasa, una estimulación del ALA-S y acumulación de Proto (De Matteis y col., 1980 b).

VII.4. PORFIRIA PRODUCIDA POR COMPUESTOS POLICLORADOS. INHIBICION DE LA URO-D

Como hemos visto en el Capítulo de Porfirias Humanas, el HCB tiene la capacidad de producir porfiria hepática.

En 1956 se observaron miles de casos de PCT sintomática con intensa fotosensibilidad, hepatomegalia y elevada porfirinuria en individuos de ambos sexos y distintas edades correspondientes a tres grupos étnicos diferentes (Schmid, 1960; Dogramaci y col., 1962; Cam y Nigogosyan, 1963). Este brote de porfiria surgió por la ingesta de pan que había sido elaborado con harina de trigo tratado con el fungicida.

Después de los reportes de estos casos de porfiria en Turquía se demostró que este compuesto causa porfiria hepática en ratas y conejos (Ockner y Schmid, 1961; De Matteis y col., 1961; Gajdos y Gajdos-Török, 1961). Tanto en animales como en humanos el desarrollo de esta porfiria es gradual y requiere una prolongada exposición al agente para producir la

enfermedad.

El cuadro bioquímico que presentan estos animales se caracteriza por un incremento en la excreción de las porfirinas urinarias altamente carboxiladas y una marcada inhibición de la URO-D hepática (De Matteis y col., 1961; Blekkenhorst y col., 1976; Elder y col., 1976; San Martín de Viale y col., 1977; Smith y col., 1979; Tieperman y Doss, 1980; Battlle y col., 1985).

Es interesante destacar que en los animales que han recibido el policlorado en el alimento en forma continua, existe una buena correlación entre la inhibición enzimática, el tiempo y la excreción urinaria o concentración de porfirinas hepáticas. Además se encontró en dos razas de ratas tratadas con HCB, que una era muy susceptible a la porfiria mientras que la otra era relativamente resistente; observándose en la primera una marcada disminución en la actividad de URO-D, estimulación de ALA-S y acumulación de Uro en hígado (Smith y col., 1979).

Existen evidencias de que los estrógenos y el Fe contribuyen a exacerbar la porfiria inducida por este agente policlorado en ratas, dando lugar a una mayor inhibición en la actividad de la URO-D. Es interesante destacar que esta porfiria se desarrolla más lentamente en ratas macho que en hembras (San Martín de Viale y col., 1970; Grant y col., 1974) y el tratamiento de los machos con estrógenos los hace más susceptibles a la acción porfirinogénica (Smith y Francis, 1981).

Se ha propuesto que la metabolización del HCB es un requerimiento previo para la disminución de la actividad de la URO-D.

Si bien no se conoce el mecanismo de acción de los estrógenos se ha sugerido que ellos actuarían estimulando el metabolismo del HCB y de los compuestos policlorados aromáticos conduciendo a incrementar la inhibición enzimática y por lo tanto la porfiria (Smith y Francis, 1981).

Dado que en presencia de niveles elevados de hierro hepático no hémico, ya sea por sobrecarga férrica (Louw y col., 1977) o causas genéticas (Smith y col., 1979), la inhibición de la URO-D en animales intoxicados con HCB, es más rápida y pronunciada, se sugirió la intervención del hierro en la pato

génesis de la porfiria adquirida.

No se conoce aún el mecanismo de interacción entre el hierro y los compuestos químicos clorados que conducen a la inhibición de la enzima. Pueden considerarse varias posibilidades. Una de ellas relaciona al hierro directamente con la metabolización del HCB hacia metabolitos capaces de inhibir la URO-D (Sinclair y Granick, 1974). Sin embargo, se observó que tanto el hierro como los estrógenos empeoran el curso de la PCT hereditaria humana correspondiente en la que se observa el mismo defecto enzimático sin la exposición previa a agentes porfirinogénicos (Elder, 1978; Smith y De Matteis, 1980). Esto sugirió que la acción sinérgica del hierro a los estrógenos no necesariamente se debe a la activación de los compuestos químicos policlorados, sino que puede estar involucrada con la patogénesis del trastorno.

Es decir, una posibilidad sería que los compuestos clorados indujeran en el hígado sistemas enzimáticos involucrados en la reducción y movilización del Fe^{3+} a la forma Fe^{2+} , potencialmente tóxica. En este caso sería el Fe^{2+} y no los compuestos clorados, el agente tóxico responsable de la inhibición enzimática y de los cambios hepatotóxicos adicionales comunes en este tipo de porfiria (De Matteis y Stonard, 1977).

Otro mecanismo propuesto consiste en que los compuestos clorados puedan de alguna forma iniciar una reacción potencialmente tóxica que requerirá luego hierro para su extensión o desarrollo, produciendo así una mayor respuesta tóxica (De Matteis, 1982).

Cierto apoyo para estos dos últimos mecanismos proviene del uso de 2,3,7,8, tetracloro-p-dioxina (TCDD) como agente porfirinogénico, este compuesto también induce una porfiria de tipo hepático, con gran acumulación de Uro en hígado. La toxicidad del TCDD se redujo en gran parte haciendo ferropénicos a los animales (Sweeney y col., 1979; Jones y col., 1981) y se incrementó por administración de hierro exógeno (Sweeney y Jones, 1980).

Otro mecanismo mediante el cual el hierro podría aumentar la acumulación de porfirinas sería a través de la estimulación del ALA-S hepática, que se ha observado en ciertas condiciones de sobrecarga de hierro (Stein y col., 1970; De Matteis y Sparks, 1973).

Sin embargo, en estudios realizados en cultivos de hígado de embrión de pollo la porfirinogénesis producida por TCDD o bifenilos policlorados no se vió afectada por la presencia del hierro (De Verneuil y col., 1983). Se ha sugerido que el hierro exógeno y endógeno cumplen roles distintos en la regulación de la actividad de la URO-D. El hierro endógeno es el que desempeña un papel importante en el desarrollo de la porfiria experimental inducida por estos productos químicos.

Si bien Kawanishi y col. (1981) observaron efectos inhibitorios de bifenilos policlorados sobre la URO-D parcialmente purificada, estos resultados son contradictorios a lo encontrado por De Verneuil y col. (1983) quienes observaron que este compuesto policlorado no inhibía a la URO-D de GR humanos altamente purificada, o a la enzima de células hepáticas de embrión de pollo. Además, el agregado de TCDD a homogenatos de células hepáticas de embrión de pollo tampoco producía inhibición de la actividad enzimática. Estos resultados han llevado a proponer que el inhibidor se generaría a partir de hidrocarburos relacionados, tales como bifenilos policlorados o TCDD en el hígado que entonces actuarían sobre la URO-D (De Verneuil y col., 1983).

Masini y col. (1984) estudiaron las propiedades estructurales y funcionales de mitocondrias de hígado de ratas tratadas con HCB y HCB más hierro, observando el desacople del proceso fosforilativo. A partir de estos resultados se ha propuesto al pentaclorofenol como el causante de esta anomalía.

Recientemente, Batlle y col. (1985) llevaron a cabo un complejo estudio comparativo en pacientes con PCT hereditaria y no-hereditaria y ratas control y sideróticas intoxicadas con HCB. Las determinaciones realizadas en precursores y porfirinas urinarias, porfirinas hepáticas y actividades enzimáticas tanto en hígado como en GR, refuerzan el valor del modelo animal para el estudio de la PCT humana.

En conclusión, podemos decir que la porfiria inducida experimentalmente en animales y sistemas de experimentación ha contribuido a atribuir, por lo menos en parte, la patogénesis de las porfirias humanas hereditarias y adquiridas a una inusual sensibilidad de los pacientes a ciertas drogas o compuestos con propiedades porfirinogénicas.

VII.5. REFERENCIAS

- Abbritti, G. & De Matteis, F. Chem. Biol. Interact. 4 (1971) 281.
- Abbritti, G. & De Matteis, F. Enzyme 16 (1973) 196.
- Battle, A.; Salamanca, E. de, R.; Magnin, P.; Afonso, S.; Chinarro, S.; Stella, A. & Wider, E. Rev. Arg. de Dermat. (1985) en prensa.
- Blekkenhorst, G.; Pimstone, N.; Weber, B. & Eales, L. Ann. Clin. Research, 8 Supplement 17 (1976) 108.
- Bonkowsky, H.; Healey, J.; Sinclair, P.; Meyer, Y. & Erny, R. Biochem. J. 188 (1980) 289.
- Cam, C. & Nigogosyan, G. J. Am. Med. Assoc. 183 (1963) 88.
- Correia, M.; Farrell, G.; Schmid, R.; Ortiz de Montellano, P.; Yost, G. & Mico, G. J. Biol. Chem. 254 (1979) 15.
- De Matteis, F. Pharmacol. Reviews 19 (1967) 523.
- De Matteis, F. FEBS Lett. 6 (1970) 343.
- De Matteis, F. Biochem. J. 124 (1971) 767.
- De Matteis, F. Drug Metab. Dispos. 1 (1973) 267.
- De Matteis, F. Endocrinología Clínica y Metabolismo 4 (1982) 67.
- De Matteis, F. & Cantoni, L. Biochem. J. 183 (1979) 99.
- De Matteis, F. & Gibbs, A. Biochem. J. 146 (1975) 285.
- De Matteis, F. & Gibbs, A. Biochem. J. 187 (1980) 285.
- De Matteis, F.; Gibbs, A.; Cantoni, L. & Francis, J. Ciba Found. Symp. 76 (new series) (1980 a) 119.
- De Matteis, F.; Gibbs, A. & Smith, A. Biochem. J. 189 (1980 b) 645.
- De Matteis, F.; Gibbs, A. & Tephly, T. Biochem. J. 188 (1980 c) 145.
- De Matteis, F.; Gibbs, A.; Jackson, A. & Weerasinghe, S. FEBS Lett. 119 (1980 d) 109.
- De Matteis, F.; Gibbs, A.; Farmer, P. & Lamb, J. FEBS Lett. 129 (1981) 328.

- De Matteis, F.; Gibbs, A. & Unseld, A. en: "Advances in Experimental Medicine and Biologie" 136 b (1982) 1319. New York and London, Plenum Press.
- De Matteis, F.; Prior, B. & Rimington, C. Nature (London) 191 (1961) 363.
- De Matteis, F. & Rimington, C. Brit. J. Dermatol. 75 (1963) 91.
- De Matteis, F. & Sparks, R. FEBS Lett. 29 (1973) 141.
- De Matteis, F. & Stonard, M. Seminars in Haematology 14 (1977) 187.
- De Matteis, F. & Unseld, A. Biochem. Soc. Trans. 4 (1976) 205.
- De Verneuil, H.; Sassa, S. & Kappas, A. Biochem. J. 214 (1983) 145.
- Dogramaci, I.; Tinaztepe, G. & Gunalp, A. Turkish, J. of Pediatrics 4 (1962) 103.
- Duesberg, R. Medizinische Wochenschrift 79 (1932) 1821.
- Elder, G.; Evans, J. & Matlin, S. Clinical Science and Molecular Medicine 51 (1976) 71.
- Elder, G. en "Heme and hemoproteins", Handbook of Experimental Pharmacology, 44 (1978) 157. (Ed. F. De Matteis y W. Aldridge) Berlin. Springer-Verlag.
- Gajdos, A. & Gajdos-Török, M. Lancet 11 (1961) 175.
- Goldberg, A. Biochem. J. 57 (1954) 55.
- Goldberg, A.; Rimington, C. & Fenton, J. Proc. Royal Society, Series B 143 (1955) 257.
- Granick, S. J. Biol. Chem. 241 (1966) 1359.
- Granick, S. & Urata, G. Metabolic Regulation 5 (1963) 77.
- Grant, D.; Iverson, F.; Hatina, G. & Villeneuve, D. Environ. Physiol. Biochem. 4 (1974) 159.
- Guengerich, F. & Strikland, T. Mol. Pharmacol. 13 (1977) 993.
- Hammarsten, D. Skandinavishes Archiv für Physiologie 3 (1892) 319.
- Harley, V. Brit. Med. J. 11 (1890) 1169.

- Hayashi, N.; Kurashima, Y. & Kikuchi, G. Arch. Biochem. Biophys. 148 (1972) 10.
- Hayashi, N.; Terasawa, M. & Kikuchi, G. J. Biochem. (Tokyo) 88 (1980) 921.
- Ivanetich, K.; Marsh, J.; Bradshaw, J. & Kaminsky, L. Biochem. Pharmacol. 24 (1975) 1933.
- Jones, K.; Cole, F. & Sweeney, G. Toxicol. Appl. Pharmacol. 61 (1981) 74.
- Kawanishi, S.; Seki, Y. & Sano, S. FEBS. Lett. 129 (1981) 93.
- Levin, W.; Jacobson, M. & Kuntzman, R. Arch. Biochem. Biophys. 148 (1972) 262.
- Levin, W.; Jacobson, M.; Sernatinger, E. & Kuntzman, R. Drug Metab. Dispos. 1 (1973) 275.
- Lockhead, A.; Dagg, J. & Goldberg, A. Brit. J. Dermatol. 79 (1967) 96.
- Louw, M.; Neethling, A.; Percy, V.; Carstens, M. & Schanley, B. Clin. Science and Molecular Medicine 53 (1977) 111.
- Magnus, J. Clin. Haematol. 9 (1980) 273.
- Marver, H.; Collins, A.; Tschudy, D. & Rechcigl, M. J. Biol Chem. 241 (1966) 4323.
- Masini, A.; Ceccarelli-Stanzani, D.; Trenti, T.; Rocchi, E. & Ventura, E. Biochem. Bioph. Research Comm. 118 (1984) 356.
- Mc Donagh, A.; Pospisil, R. & Meyer, U. Biochem. Soc. Trans. 4 (1976) 297.
- Meyer, U. & Marver, H. Science 171 (1971) 64.
- Ockner, R. & Schmid, R. Nature (London) 189 (1961) 499.
- Onisawa, J. & Labbe, R. J. Biol. Chem. 238 (1963) 724.
- Ortiz de Montellano, F.; Mico, B.; Yost, G. Biochem. Biophys. Res. Comm. 83 (1978) 132.
- Ortiz de Montellano, P.; Kunze, K.; Yost, G. & Mico, B. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76 (1979) 746.
- Ortiz de Montellano, P.; Beilan, H. & Kunze, K. J. Biol. Chem. 256 (1981) 6708.
- Ortiz de Montellano, P. & Kunze, K. J. Amer. Chem. Soc. 103 (1981) 4225.

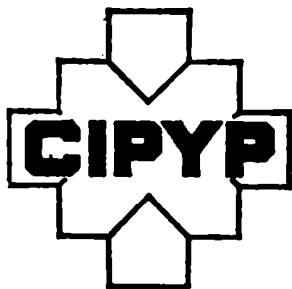
- Salkowski, E. Hoppe-Seylers Zeitschrift für Physiologische Chemie 15 (1891) 286.
- San Martín de Viale, L.; Ríos de Molina, M.; Wainstok de Calmanovich, R. & Tomio, J. Biochem. J. 168 (1977) 393.
- San Martín de Viale, L.; Viale, A.; Nacht, S. & Grinstein, M. Clin. Chim. Acta 28 (1970) 13.
- Schmid, R. New England Journal of Medicine 263 (1960) 397.
- Schmid, R. & Schwartz, S. P. Soc. Exp. Biology and Medicine 81 (1952) 685.
- Schmid, R.; Schwartz, S. & Watson, C. Arch. Intern. Med. 93 (1954) 167.
- Scholnick, P.; Hammaker, L. & Marver, H. J. Biol. Chem. 247 (1972) 4126.
- Schwartz, S. & Ikeda, K. en: "Ciba Found. Symp., Porphyrin Biosynthesis and Metabolism" (1955) 209. (Ed. G. Wolstenholme y E. Millar) London, J. & A. Churchill Ltd.
- Sinclair, P. & Granick, A. Biochem. Biophys. Res. Commun. 61 (1974) 124.
- Smith, A.; Cabral, J. & De Matteis, F. Chem. Biol. Interactions 27 (1979) 353.
- Smith, A. & De Matteis, F. Clinics in Haematology 9 (1980) 399.
- Smith, A. & Francis, J. Biochem. Pharmacol. 30 (1981) 1849.
- Solomon, H. & Figge, F. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 100 (1959) 583.
- Stein, J.; Tschudy, D. & Corcoran, P. J. Biol. Chem. 245 (1970) 2213.
- Stich, W. & Decker, P. en: "Ciba Found. Symp., Porphyrin Biosynthesis and Metabolism" (1955) 254. (Ed. G. Wostenholme y E. Millar) London, L. & A. Churchill, Ltd.
- Stokvis, B. Nederlands Tydschrift voor. Genesbunde 25 (1889) 409.
- Stokvis, B. Seitschrift für Klinische Medizin 28 (1895) 1.
- Sweeney, D. & Jones, K. Meeting on Polihalogenated Hydrocarbons (1980) Woningen, Holland.
- Sweeney, G.; Jones, K.; Cole, F.; Basford, D. & Krestynski, F. Science 204 (1979) 332.

- Talman, E.; Labbe, R. & Aldrich, R. Arch. Biochem. Biophys. 66 (1957) 289.
- Tephly, T.; Coffman, B.; Ingall, G.; Abouzeit-Har, M.; Goff, H.; Tabb, H. & Smith, K. Arch. Biochem. Biophys. 212 (1981) 120.
- Tephly, T.; Gibbs, A. & De Matteis, F. Biochem. J. 180 (1979) 241.
- Tephly, T.; Hasegawa, E. & Baron, J. Metabolism 20 (1971) 200.
- Tiepermann, R.; Koss, G. & Doss, M. Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 361 (1980) 1217.
- Unseld, A. & De Matteis, F. Int. J. Biochem. 9 (1978) 865.
- Wada, O.,; Yano, Y.; Urata, G. & Nakao, K. Biochem. Pharmacol. 17 (1968) 595.
- Waterfield, M.; Del Favero, A. & Gray, C. Biochim. Biophys. Acta 184 (1969) 470.
- Weston-Hurst, E. & Paget, G. Brit. J. Dermatol. 75 (1963) 105.
- White, I. Biochem. J. 174 (1978) 853.
- White, I. Biochem. J. 196 (1981) 575.
- White, I., & Muller-Eberhard, U. Biochem. J. 166 (1977) 57.

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

**DESORDENES EN EL METABOLISMO DE LA HEMOGLOBINA
ESTUDIOS SOBRE EL DEFECTO DE LA
PORFIRIA CUTANEA ACUTA**

VICTORIA ESPELA GARCÍA



**1985
TOMO II**

I N D I C E G E N E R A L

TOMO I

	Página
AGRADECIMIENTOS	i
ABREVIATURAS	iii
OBJETIVOS	v
INTRODUCCION	1
- CAPITULO I: PORFIRINAS Y PORFIRIAS	1
I.1. GENERALIDADES	1
I.2. ORIGEN DE LAS PORFIRINAS	1
I.3. ANTECEDENTES HISTORICOS	3
I.4. REFERENCIAS	10
- CAPITULO II: TETRAPIRROLES Y COMPUESTOS RELACIONADOS	15
II.1. PRECURSORES	15
II.2. NOMENCLATURA Y ESTRUCTURA DE LOS TETRA- PIRROLES	16
II.3. PORFIRINAS	17
II.4. PORFIRINOGENOS	20
II.5. METALOPORFIRINAS	21
II.6. TETRAPIRROLES DE CADENA ABIERTA	25
II.7. PROPIEDADES FISICOQUIMICAS DE LAS PORFI- RINAS	26

✓ *Exsis 1948*
v. 2
ei. 7

	Página
II.8. DISTRIBUCION EN LA NATURALEZA	28
II.9. REFERENCIAS	30
- CAPITULO III: BIOSINTESIS DE PORFIRINAS	31
III.1. INTRODUCCION	31
III.2. SUCCINIL COA-SINTETASA	33
III.2.1. Propiedades	33
III.2.2. Mecanismo de acción de la Succinil CoA-Sintetasa	34
III.3. SINTESIS ENZIMATICA DE ALA	35
III.3.1. Acido δ -Aminolevúlico Sintetasa	35
III.3.1.1. Propiedades	35
III.3.1.2. Mecanismo de acción del ALA-S	37
III.3.2. Vía alternativa para la formación de ALA	37
III.4. ACIDO δ -AMINOLEVULICO DEHIDRASA	40
III.4.1. Propiedades	40
III.4.2. Mecanismo de acción del ALA-D	41
III.5. PORFOBILINOGENASA	41
III.5.1. Propiedades	41
III.5.2. Mecanismo de acción de la PBG-asa	44
III.6. UROPORFIRINOGENO DECARBOXILASA	48
III.6.1. Propiedades	48
III.6.2. Rutas de decarboxilación de la Decarboxilasa	49
III.7. COPROPORFIRINOGENASA	50
III.7.1. Propiedades	50
III.7.2. Mecanismo de acción de la Coprogenasa	53

	Página
III.8. PROTOPORFIRINOGENO OXIDASA	55
III.9. FERROQUELATASA	55
III.10. REFERENCIAS	58
- CAPITULO IV: REGULACION	66
IV.1. INTRODUCCION	66
IV.2. MECANISMOS DE CONTROL	67
IV.2.1. Control a través de cambios en la actividad enzimática	67
IV.2.2. Control genético a través de cambios en la cantidad de enzima	68
IV.2.3. Control por especialización tisular	70
IV.2.3.1. Hígado	71
IV.2.3.2. Células eritroides	73
IV.2.3.3. Otros tejidos	76
IV.2.4. Compartimentalización intracelular	77
IV.2.5. Control por otros <u>constituyentes del medio ambiente o celular</u>	79
IV.2.5.1. Oxígeno	79
IV.2.5.2. Iluminación	79
IV.2.6. Control por interconexión con otros caminos metabólicos	80
IV.2.7. Rol de las enzimas del camino biosintético del hemo	80
IV.3. REFERENCIAS	82

	Página
- CAPITULO V: PORFIRIAS HUMANAS	86
V.1. CLASIFICACION DE LAS PORFIRIAS	86
V.1.1. Referencias	90
V.2. PORFIRIA CONGENITA ERITROPOYETICA	91
V.2.1. Historia	91
V.2.2. Herencia, Distribución e Incidencia	91
V.2.3. Sintomatología	92
V.2.4. Características bioquímicas	93
V.2.4.1. Patrón de excreción y a- cumulación	93
V.2.4.2. Defecto enzimático prima- rio específico	94
V.2.5. Aparición de la enfermedad	97
V.2.6. Control y tratamiento	98
V.2.7. Referencias	100
V.3. PROTOPORFIRIA ERITROPOYETICA	103
V.3.1. Historia	103
V.3.2. Herencia, Distribución e Incidencia	103
V.3.3. Sintomatología	104
V.3.4. Características bioquímicas	105
V.3.4.1. Patrón de excreción y acumulación	105
V.3.4.2. Defecto enzimático prima- rio específico	106
V.3.5. Tratamiento	109
V.3.6. Referencias	111
V.4. COPROPORFIRIA ERITROPOYETICA	114
V.4.1. Referencias	115

	Página
V.5. PORFIRIA AGUDA INTERMITENTE	116
V.5.1. Historia	116
V.5.2. Herencia, distribución e incidencia	116
V.5.3. Sintomatología	117
V.5.3.1. Sistema gastrointestinal	117
V.5.3.2. Sistema cardiovascular	118
V.5.3.3. Aparato renal	118
V.5.3.4. Sistema nervioso	119
V.5.3.5. Funcionamiento tiroideo	121
V.5.4. Características bioquímicas	122
V.5.4.1. Patrón de excreción	122
V.5.4.2. Defecto enzimático primario específico	122
V.5.5. Tipos clínicos de PAI	124
V.5.6. Patogenia de las porfirias agudas	125
V.5.7. Factores precipitantes	131
V.5.7.1. Esteroides	133
V.5.7.2. Menstruación	135
V.5.7.3. Embarazo	135
V.5.7.4. Anestésicos	136
V.5.8. Control y tratamiento	137
V.5.8.1. Tratamiento con hidratos de carbono	138
V.5.8.2. Tratamiento con hematina	143
V.5.8.3. Tratamiento con β -bloqueantes	146
V.5.8.4. Tratamiento con ácido fólico	146
V.5.8.5. Tratamiento con corti- coesteroides	149

	Página
V.5.8.6. Otros tratamientos	149
V.5.9. Referencias	152
V.6. PORFIRIA VARIEGATA	163
V.6.1. Historia	163
V.6.2. Herencia, distribución e incidencia	164
V.6.3. Sintomatología	164
V.6.4. Características bioquímicas	166
V.6.4.1. Patrón de excreción	166
V.6.4.2. Defecto enzimático primario	167
V.6.5. Aparición de la enfermedad	169
V.6.6. Tratamiento	169
V.6.7. Referencias	171
V.7. COPROPORFIRIA HEREDITARIA	174
V.7.1. Historia	174
V.7.2. Herencia, Distribución e incidencia	174
V.7.3. Sintomatología	175
V.7.4. Características bioquímicas	175
V.7.5. Coproporfiria homocigótica	176
V.7.6. Aparición de la enfermedad	176
V.7.7. Control y tratamiento	177
V.7.8. Referencias	178
V.8. HARDEROPORFIRIA	180
V.8.1. Historia	180
V.8.2. Referencias	182
V.9. NUEVA PORFIRIA AGUDA	183
V.9.1. Historia	183
V.9.2. Sintomatología	183
V.9.3. Características bioquímicas	183
V.9.3.1. Patrón de excreción	183

	Página
V.9.3.2. Defecto enzimático primario	184
V.9.4. Deficiencia enzimática (ALA-D) hereditaria en su- jetos asintomáticos	185
V.9.5. Referencias	186
V.10. PORFIRIA CUTANEA TARDA	187
V.10.1. Historia	187
V.10.2. Herencia, Distribución e Incidencia	188
V.10.3. Sintomatología	189
V.10.3.1. Manifestaciones dermatoló- gicas	189
V.10.3.11. Acción fotodinámica de las porfirinas	191
V.10.3.12. Origen y localización de porfirinas en piel	192
V.10.3.2. Manifestaciones hepáticas	194
V.10.4. PCT asociada a otras enfermedades	195
V.10.4.1. PCT y tumores hepáticos	195
V.10.4.2. PCT y lupus	196
V.10.4.3. PCT y diabetes	196
V.10.4.4. PCT y enfermedades renales	197
V.10.4.5. Otras asociaciones	197
V.10.5. Características bioquímicas	197
V.10.5.1. Patrón de excreción	197
V.10.5.2. Defecto enzimático primario específico	198
V.10.6. Tipos clínicos de PCT	200
V.10.7. Aparición de la enfermedad	201
V.10.8. Rol del hierro en la PCT	202
V.10.9. Control y tratamiento	204
V.10.10. Referencias	209

	Página
V.11. PORFIRIA HEPATOERITROPOYETICA	222
V.11.1. Referencias	223
V.12. INTOXICACION POR PLOMO	224
V.12.1. Sintomatología	224
V.12.2. Características bioquímicas	225
V.12.3. Control y tratamiento	226
V.12.4. Referencias	228
- CAPITULO VI: PORFIRIA EN ANIMALES	230
VI.1. INTRODUCCION	230
VI.2. <i>Sciurus niger</i> COMO MODELO ANIMAL DE PCE HUMANA	230
VI.3. PORFIRIA EN GATOS	231
VI.4. PORFIRIA EN GANADO VACUNO	232
VI.5. PORFIRIA EN CERDOS	236
VI.6. PORFIRIA EN PERROS	238
VI.7. REFERENCIAS	239
- CAPITULO VII: PORFIRIA EXPERIMENTAL	243
VII.1. INTRODUCCION	243
VII.2. PORFIRIA PRODUCIDA POR PRODUCTOS QUIMICOS NO SATURADOS. INDUCCION POR AUMENTO DE LA DESTRUCCION DEL HEMO HEPATICO	245
VII.3. PORFIRIA PRODUCIDA POR DIHIDROPIRIDINAS SUSTITUIDAS Y GRISEOFULVINA. INHIBICION DE LA SINTESIS DEL HEMO A NIVEL DE LA FERROQUELATASA	247
VII.4. PORFIRIA PRODUCIDA POR COMPUESTOS POLI-CLORADOS. INHIBICION DE LA URO-D	249
VII.5. REFERENCIAS	253

MATERIALES Y METODOS

- CAPITULO I: MATERIALES Y METODOS	258
I.1. REACTIVOS	258
I.2. PACIENTES	258
I.3. MATERIAL BIOLOGICO	258
I.4. ESTUDIOS EN ORINA	259
I.4.1. Determinación de ALA y PBG	259
I.4.1.1. Preparación de las resinas	259
I.4.1.2. Separación de ALA y PBG	260
I.4.1.3. Determinación colorimétrica de ALA y PBG	260
I.4.2. Determinación de porfirinas libres: fracción Uro y fracción Copro	261
I.4.3. Determinación de porfirinas totales	262
I.4.4. Determinación de porfirinas esterificadas	263
I.5. ESTUDIOS EN MATERIA FECAL	264
I.5.1. Determinación del contenido de porfirinas	264
I.6. ESTUDIOS EN SANGRE	265
I.6.1. Determinación cuantitativa de porfirinas en plasma	265
I.6.2. Determinación de porfirinas en sangre	265
I.6.3. Determinación de Protoporfirina en glóbulos rojos	266
I.6.4. Determinación de proteínas en sangre	267
I.7. SEPARACION CROMATOGRAFICA DE PORFIRINAS ESTERIFICADAS	267
I.7.1. Cromatografía en papel	267

	Página
I.7.2. Cromatografía en capa delgada (TLC o HPTLC)	268
I.7.3. Cromatografía líquida a alta presión	269
I.8. OBTENCION DE LA FUENTE PROTEICA	269
I.9. DETERMINACION DE ACTIVIDADES ENZIMATICAS	270
I.9.1. ALA-S	270
I.9.2. ALA-D	270
I.9.3. PBG-asa y Deaminasa	271
I.9.4. URO-D	272
I.9.5. Ferroquelatasa	273
I.10. BIOSINTESIS DE PORFIRINAS A PARTIR DE PRECURSORES	273
I.11. REFERENCIAS	275
RESULTADOS Y DISCUSION	
- CAPITULO I: UN METODO SIMPLE PARA LA MEDICION DE PBG-ASA EN ERITROCITOS Y SU APLICACION EN EL DIAGNOSTICO DE LA PORFIRIA AGUDA INTERMITENTE	277
I.1. INTRODUCCION	277
I.2. MATERIALES Y METODOS	277
I.3. RESULTADOS Y DISCUSION	279
I.3.1. Lecturas espectrofotométricas y fluorimétricas	279
I.3.2. Efecto del método utilizado para obtener el hemolizado, concentración proteica, tiempo y temperatura de incubación.	280
I.3.3. Estabilidad de la enzima	280
I.3.4. Actividad de PBG-asa en individuos normales y en pacientes con distintos tipos de porfiria	282

	Página
I.4. CONCLUSIONES Y RESUMEN	283
I.5. REFERENCIAS	285
- CAPITULO II: BIOSINTESIS DE PORFIRINAS Y ESTUDIOS ENZIMATICOS EN ERITROCITOS DE INDIVI DUOS NORMALES Y PORFIRICOS	286
II.1. INTRODUCCION	286
II.2. MATERIALES Y METODOS	287
II.3. RESULTADOS Y DISCUSION	287
II.3.1. Determinaciones enzimáticas	287
II.3.2. Actividad biosintética	290
II.3.2.1. Biosíntesis de porfirinas totales	290
II.3.2.2. Biosíntesis de porfirinas totales en PCT y PAI	291
II.3.2.3. Distribución de porfirinas biosintéticas	292
II.3.2.4. Patrones de porfirinas bio sintéticas en casos de PCT hereditaria y no-heredita- ria y PAI antes y después del tratamiento	293
II.4. CONCLUSIONES Y RESUMEN	296
II.5. REFERENCIAS	298
- CAPITULO III: UNA NUEVA Y SIMPLE TERAPIA DE LA PORFIRIA AGUDA INTERMITENTE	300
III.1. INTRODUCCION	300
III.2. RESULTADOS Y DISCUSION	301
III.3. CONCLUSIONES Y RESUMEN	303
III.4. REFERENCIAS	306

	Página
- CAPITULO IV: LA HERENCIA EN LA PORFIRIA AGUDA INTERMITENTE Y ALGUNAS CARACTERISTICAS DE INTERES. UN ESTUDIO DE 14 FAMILIAS	307
IV.1. INTRODUCCION	307
IV.2. MATERIALES	308
IV.3. RESULTADOS Y DISCUSION	308
IV.4. CONCLUSIONES	335
IV.5. REFERENCIAS	344
- CAPITULO V: LA HERENCIA EN LA PORFIRIA VARIEGATA	346
V.1. INTRODUCCION	346
V.2. MATERIALES	347
V.3. RESULTADOS Y DISCUSION	347
V.4. CONCLUSIONES	359
V.5. REFERENCIAS	362
- CAPITULO VI: LA HERENCIA EN LA COPROPORFIRIA HEREDITARIA	363
VI.1. INTRODUCCION	363
VI.2. MATERIALES	363
VI.3. RESULTADOS Y DISCUSION	364
VI.4. RESUMEN Y CONCLUSIONES	369
VI.5. REFERENCIAS	370
- CAPITULO VII: LA HERENCIA EN LA PORFIRIA CUTANEA TARDA	371
VII.1. INTRODUCCION	371
VII.2. MATERIALES Y METODOS	373
VII.3. RESULTADOS Y DISCUSION	374
VII.3.1. Criterios	374
VII.3.2. Tipos de PCT	374
VII.3.3. Datos bioquímicos	376
VII.4. CONCLUSIONES	378
VII.5. REFERENCIAS	437

	Página
- CAPITULO VIII: LA HERENCIA EN LA PORFIRIA CONGENITA ERITROPOYETICA	440
VIII.1. INTRODUCCION	440
VIII.2. MATERIALES	442
VIII.3. RESULTADOS	443
VIII.3.1. Precursores y porfirinas en orina y heces	443
VIII.3.2. Indice de fluorescencia y porfirinas en glóbulos rojos y plasma	444
VIII.3.3. Actividad de las enzimas del camino del hemo	445
VIII.4. DISCUSION	447
VIII.5. CONCLUSIONES	449
VIII.6. REFERENCIAS	450
- CAPITULO IX: LA HERENCIA EN LA PROTOPORFIRIA ERITROPOYETICA	452
IX.1. INTRODUCCION	452
IX.2. MATERIALES	453
IX.3. RESULTADOS Y DISCUSION	453
IX.4. RESUMEN	460
IX.5. REFERENCIAS	462

ABREVIATURAS

Succ.CoA	Succinil CoA
DOVA	γ - δ -Dioxovalerato
ALA	Acido δ -aminolevúlico
PBG	Porfobilinógeno
Uro, U	Uroporfirina
Urogen	Uroporfirinógeno
Firia, Hepta	Firiaporfirina, Heptaporfirina
Hexa	Hexaporfirina
Penta	Pentaporfirina
Copro, C	Coproporfirina
Coprogen	Coproporfirinógeno
Isocopro	Isocoproporfirina
Harderogen	Harderoporfirinógeno
Proto	Protoporfirina
Protogen	Protoporfirinógeno
Succ.CoA-S	Succinil CoA-Sintetasa
ALA-S	ALA-Sintetasa
DOVA-T	DOVA-Transaminasa
ALA-D	ALA-Dehidrasa
PBG-asa	Porfobilinogenasa
Uro-D	Uro-Decarboxilasa
CPG-asa	Coproporfirinogenasa, Coprogenasa
Protogen-Oxidasa	Protoporfirinógeno-Oxidasa
PCE	Porfiria Congénita Eritropoyética
PPE	Protoporfiria Eritropoyética
CPE	Coproporfiria Eritropoyética
PAI	Porfiria Aguda Intermitente
PV	Porfiria Variegata
CPH	Coproporfiria Hereditaria
HP	Harderoporfiria
NPA	Nueva Porfiria Aguda
PCT	Porfiria Cutánea Tarda
PHE	Porfiria Hepatoeritropoyética
I-Pb	Intoxicación por plomo
ACTH	Adrenocorticotrofina
AIA	Alilisopropilacetamida
DDC	3,5-dicarbetoxi-1,4-dihidrocolidina
GABA	Acido γ -aminobutírico
GSH	Glutati6n reducido

IA	Iodoacetamida
PABA	Acido p-aminobenzoico
PCMB	p-Cloromercuribenzoato
SAM	S-adenosilmetionina
TCA	Acido tricloroacético
THP	Acido tetrahidrofólico
F.I.D.	Fosa ilíaca derecha
GR	Glóbulos rojos
HPLC o HPTLC	Cromatografía líquida a alta presión
L.O.	Lisis osmótica
Pr.	Propósito
TLC	Cromatografía en capa delgada
U.S.	Ultrasonido

MATERIALES Y METODOS

I. MATERIALES Y METODOS

I.1. REACTIVOS

La mayoría de los reactivos fueron obtenidos de las firmas comerciales Difco, Merck o Sigma Chem. Co.

El PBG preparado enzimáticamente se sintetizó de acuerdo a la metodología descripta por Sancovich y col. (1970).

Las resinas Dowex de intercambio iónico 2X-8 y 50X-8 (mezclas comerciales de 200-400 mesh) fueron de Fluka A.G.

I.2. PACIENTES

Se estudiaron 85 miembros pertenecientes a 14 familias con PAI; 20 personas de 6 familias con PV; 3 miembros de 2 familias con CPH; 107 individuos de 27 familias con PCT; 5 miembros de 1 familia con PCE; 5 pacientes con PPE y 9 intoxicados con Pb.

Los pacientes porfíricos fueron enviados de 8 Centros Hospitalarios de Buenos Aires, 1 de Rosario, 1 de Córdoba y uno de Salta: Hospital Ramos Mejía, Hospital Argerich, Hospital Italiano, Hospital Posadas; Hospital de niños; Hospital Pirovano; Hospital Escuela José de San Martín; Centro Respiratorio María Ferrer; Hospital General de Agudos Dr. Iriarte (Quilmes); Hospital Funes (Córdoba); Hospital Materno-Infantil (Salta); Sanatorio Regional "Rosendo García" (Rosario).

Para los valores normales se obtuvieron muestras provenientes de 60 individuos sanos. De todos modos se debe enfatizar la importancia de disponer de datos de cada familia en estudio para poder establecer con certeza el diagnóstico de porfiria, de allí que se hayan determinado, en muchas familias, los valores normales propios para ciertos parámetros, como se indicará cuando se analicen esos casos en particular.

I.3. MATERIAL BIOLOGICO

Salvo se indique lo contrario todas las operaciones se realizaron en la oscuridad y en frío (0-5 °C) debido a la fotosensibilidad de las porfirinas y a la inestabilidad de los precursores.

En todos los casos se recogió sangre venosa sobre heparina (0,1 ml heparina; 12,5 mg heparina/ml solución fisiológica, por cada 10 ml de sangre).

Se trabajó con una fracción de la materia fecal de una deposición y con el volumen total urinario diario de los individuos estudiados.

I.4. ESTUDIOS EN ORINA

I.4.1. Determinación de ALA y PBG

Se realizó según el método de Mauzerall y Granick (1956).

La cromatografía de los precursores se basa en el uso de resinas de intercambio iónico, compactadas en columnas (0,8 x 3,0 cm). Las resinas utilizadas para separar PBG fueron las Dowex de tipo aniónico (2X-8) en la forma acetato y para el ALA, las catiónicas (50X-8) en la forma ácida.

I.4.1.1. Preparación de las resinas

Las resinas comerciales se acondicionaron para su uso según el método que se describe a continuación: la resina Dowex 2X-8 se suspende en ClH 4 N durante toda la noche y se convierte a la forma acetato por tratamiento con acetado de sodio 3 N. Posteriormente se lava con agua y se conserva en este líquido. La resina Dowex 50X-8 se convierte primero a la forma sódica dejándola toda la noche en contacto con OHNa 2N y se lava con agua hasta neutralidad. Luego se la trata con un volumen de HCl 4 N y con 6 volúmenes de HCl 2 N, 1 N y agua sucesivamente.

Las resinas Dowex 2X-8 y 50X-8 se regeneraron empleando el mismo procedimiento usado para su acondicionamiento, omitiendo la suspensión en HCl 4 N para la primera y el tratamiento con OHNa para la segunda.

I.4.1.2. Separación de ALA y PBG

Se siembra 1 ml de orina (pH entre 5 y 7) en la columna Dowex 2X-8 en la forma acetato. Se lava luego con 2 porciones de agua destilada de 2 ml cada una. El eluido se recoge todo en un tubo (T_A). El PBG se eluye de la columna con 7 ml de ácido acético 1 M.

El primer eluido de la columna Dowex 2X-8 (T_A) que contiene ALA y urea se siembra en la columna de resina Dowex 50X-8 en la forma ácida. Se lava con 16 ml de agua destilada para eliminar la urea y luego se eluye el ALA con 7 ml de acetato de sodio 0,5N.

I.4.1.3. Determinación colorimétrica de ALA y PBG

La determinación del ALA urinario se basa en la capacidad que tienen todas las aminocetonas de condensarse con acetilacetona a pH 4,6 dando lugar a la formación de un pirrol con una posición alfa libre.

Para la formación del pirrol a partir de ALA se procede de la siguiente forma: 1 ml de solución que contiene ALA se mezcla con 1 ml de buffer acetato 1 M pH 4,6 y 0,05 ml de acetilacetona y se calienta durante 10 minutos a 100 °C para producir la condensación. Luego de enfriar, se mezclan volúmenes iguales de la solución conteniendo el pirrol y del reactivo de Ehrlich. A los 8 minutos de agregado el reactivo se lee la absorbancia (A) a 555 nm en un espectrofotómetro Metrolab RC 325.

En estas condiciones, la cantidad de ALA presente se calcula mediante la siguiente expresión:

$$\text{mg ALA/24 h} = A^{555} \times v_t \times 0,00385 \times v_{24 \text{ h}}$$

donde: v_t = volumen del tubo (ml)

$v_{24 \text{ h}}$ = diuresis (ml)

0,00385 = factor aplicable correspondiente a la absorción de una solución de ALA de 1 mg/ml tratada en las condiciones descriptas.

La determinación de PBG se basa en su reacción con el p-dimetilaminobenzaldehído (p-DMAB), en medio ácido, para dar un compuesto de color rojizo.

La técnica empleada (Moore y Labbe, 1964) consistió en mezclar volúmenes iguales de muestra y reactivo de Ehrlich a temperatura ambiente. Luego de la adición del reactivo, el máximo desarrollo de color se alcanza a los 8 minutos, manteniéndose constante hasta los 15 minutos, momento en que la reacción comienza a decaer. El cálculo de PBG se realiza empleando la siguiente fórmula:

$$\text{mg PBG/24 h} = \frac{A^{555} \times \text{dilución} \times v_t \times v_{24 \text{ h}}}{113,6}$$

donde: v_t = volumen del tubo (ml)

$v_{24 \text{ h}}$ = diuresis (ml)

113,6 = absorción de una solución de PBG en ácido acético cuya concentración es de 1 mg/ml

es decir:

$$\frac{E^{1 \text{ cm}}}{1\%} = 113,6$$

$$\frac{E^{1 \text{ cm}}}{1 \text{ mM}} = 25.600 \text{ (Cookson y Rimington, 1954)}$$

De acuerdo con este método, la mínima cantidad detectable de PBG es 0,1 $\mu\text{g/ml}$ ($A^{555} = 0,0113$).

I.4.2. Determinación de porfirinas libres: fracción Uro y fracción Copro

Se basa en la propiedad que tienen las porfirinas, llevadas a su punto isoeléctrico de ser solubles en solventes orgánicos.

A 5 ml de orina llevada a pH 3-3,2 con ácido acético glacial se le realizaron extracciones sucesivas con 7 ml de acetato de etilo cada vez, hasta fluorescencia negativa. La fracción Uro (FU) se extrae con acetato de sodio 3%. Luego se lava la capa orgánica con agua destilada, y se unen los lavados a la fracción acetato (FU).

La fracción Copro se obtuvo realizando 3 ó más extracciones de la fase orgánica con HCl 0,36% (1 ml cada vez). La FU que pudiera haber quedado en la fase orgánica se extrae hasta fluorescencia negativa con HCl 5% (3 ml), uniéndose a la FU; y por último se lleva FU a una concentración final de 0,5N con HCl (c). Finalmente se miden las absorbancias en ambas fracciones a 380, 430 y el máximo entre 400 y 410 nm, en un espectrofotómetro Beckman M-35, y la cantidad de porfirinas presentes se calcula utilizando las siguientes fórmulas (Rimington y Sveinson, 1950):

- Fracción Copro:

$$\mu\text{g}/24\text{ h} = [2 A^{\text{max}} - (A^{380} + A^{430})] \times v_t \times \text{dil} \times v_{24\text{ h}} \times \frac{0,725}{5}$$

donde: v_t = volumen total de la fracción (ml)

dil = dilución realizada a la misma

$v_{24\text{ h}}$ = diuresis (ml)

0,725 = factor correspondiente

5 = volumen de orina empleado (ml)

- Fracción Uro:

$$\mu\text{g}/24\text{ h} = [2 A^{\text{max}} - (A^{380} + A^{430})] \times v_t \times \text{dil} \times v_{24\text{ h}} \times \frac{0,875}{5}$$

donde: v_t , dil, $v_{24\text{ h}}$ y 5 son los mismos parámetros de la ecuación anterior.

0,875 = factor correspondiente

I.4.3. Determinación de porfirinas totales

La estimación de porfirinas libres totales en orina se realizó según la metodología de Seubert y Seubert (1983).

La técnica consiste en intercambiar todas las porfirinas urinarias (1 ml de orina) sobre la resina aniónica (Dowex 2X-8) empaquetada en una columna cromatográfica (0,8 cm x 3,0 cm). Se lava la columna con agua destilada. Las porfiri-

nas se eluyen con un ácido fuerte (HCl 3 N) y se miden espectrofotométricamente.

$$\mu\text{g}/24\text{ h} = [2 A^{\text{max}} - (A^{380} + A^{430})] \times f \times v_{\text{HCl}} \times v_{24\text{ h}}$$

donde: v_{HCl} = volumen de la solución clorhídrica (ml)

$v_{24\text{ h}}$ = diuresis (ml)

$f = 1,185$

I.4.4. Determinación de porfirinas esterificadas

La extracción y determinación cuantitativa de las porfirinas esterificadas se realizó según la técnica de Batlle y Grinstein (1962), con algunas modificaciones.

Se utilizan 10 ó 30ml de orina dependiendo de la cantidad de porfirinas presentes. Las porfirinas urinarias se llevan a su punto isoeléctrico (pH 3-3,2) con ácido acético glacial, se adsorben sobre talco, la suspensión se centrifuga durante 10 minutos a 2000 rpm en una centrífuga Rolco modelo CM-36, se lava el talco con 10 ml de agua destilada, se centrifuga nuevamente en las mismas condiciones anteriores y se descarta el sobrenadante. Luego, las porfirinas se secan a 100 °C durante 60 minutos y se esterifican con metanol; para ello se agrega al talco 10 ml de mezcla metanol-sulfúrico 10% (v/v). Se agita y se deja en tubo cerrado durante 16 a 24 horas (ó 30 minutos a 75 °C) en oscuridad. Se descarta el talco por medio de una centrifugación a 2000 rpm durante 10 minutos y las porfirinas esterificadas se extraen con cloroformo hasta fluorescencia negativa en el solvente orgánico. El extracto clorofórmico se lleva a neutralidad con varios lavados con agua destilada (o con uno sólo de bicarbonato de sodio 6%). La emulsión formada ocasionalmente se destruye mediante el lavado con cloruro de sodio 7% y la solución clorofórmica se filtra a través de un papel de filtro embebido en el mismo solvente. Se miden las absorbancias a 380, 430 y el máximo entre 400 y 410 nm y se calcula la concentración de las porfirinas esterificadas utilizando la siguiente fórmula:

$$\mu\text{g}/24 \text{ h} = [2 A^{\text{max}} - (A^{380} + A^{430})] \times 2,721 \times \frac{v_t}{v_o} \times v_{24 \text{ h}}$$

donde: v_t = volumen total de la solución clorofórmica (ml)

$v_{24 \text{ h}}$ = diuresis (ml)

v_o = volumen de orina empleada (ml)

2,721 = factor de transformación deducido para la Uro esterificada (Conford y Benson, 1963)

I.5. ESTUDIOS EN MATERIA FECAL

I.5.1. Determinación del contenido de porfirinas

La extracción y determinación cuantitativa de las porfirinas fecales se realizó según las técnicas de With (1975) con algunas modificaciones. Se agregan a 2 g de heces 20 ml de la mezcla metanol-ácido sulfúrico (90:10, v/v). Se disgrega el sólido con una varilla de vidrio. La esterificación se desarrolla durante 16 a 24 horas en la oscuridad y a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se separan las partículas sólidas por centrifugación a 2000 rpm durante 10 minutos. Se extraen las porfirinas del sobrenadante previo al agregado de 1 ml de EDTA 10%, aplicando la metodología descripta en la determinación de porfirinas esterificadas en orina (I.4.4.).

La cantidad de porfirinas esterificadas en materia fecal se calcula de acuerdo a la siguiente relación:

$$\mu\text{g/g seco} = [2 A^{\text{max}} - (A^{380} + A^{430})] \times v_t \times \text{dil} \times 5,54$$

donde: v_t = volumen total del extracto clorofórmico (ml)

dil = dilución del mismo

5,54 = factor de transformación

I.6. ESTUDIOS EN SANGRE

I.6.1. Determinación cuantitativa de porfirinas en plasma

Debido a que en plasma hay bajas concentraciones de porfirinas se utilizó todo el material disponible. Las porfirinas se adsorbieron y extrajeron de acuerdo al procedimiento descrito en la determinación de porfirinas esterificadas en orina con la siguiente modificación: el talco con las porfirinas adsorbidas, se lava 2 veces con 5 ml de cloruro de sodio 0,9%, en lugar de agua.

La cantidad de porfirinas presentes en plasma se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\mu\text{g/ml plasma} = [2 A^{\text{max}} - (A^{380} + A^{430})] \times 2,721 \times \frac{v_t}{v_o}$$

donde: v_t = volumen total del extracto clorofórmico

v_o = volumen de plasma puesto a esterificar

2,721 = factor de transformación

I.6.2. Determinación de porfirinas en sangre

Las porfirinas libres en sangre se determinaron según los métodos de Rimington (1961) y Piomelli (1977) con algunas modificaciones.

El fundamento de la técnica se basa en extraer todas las porfirinas con acetato de etilo y purificarlas por sucesivas extracciones en ácido clorhídrico.

A 1 ml de sangre se le agregan 2 ml de celite (74 g/l solución fisiológica) y se extraen con fracciones de 5 ml de solución acetato de etilo:ácido acético (4:1 v/v) hasta fluorescencia negativa. Las porfirinas se liberan del solvente orgánico con HCl 5% y se miden espectrofotométricamente por medio de la siguiente fórmula:

$$\mu\text{g}/100 \text{ ml GR} = \frac{[2 A^{\text{max}} - (A^{380} + A^{430})] \times v \times 1,28}{H_c}$$

donde: v = volumen de la solución ácida

1,28 = factor de conversión.

H_c = hematocrito

1.6.3. Determinación de Protoporfirina libre en glóbulos rojos

Se centrifugan 2 ml de sangre y se mide el volumen globular. A los glóbulos rojos se les añaden 7 porciones de 5 ml de la mezcla ácido acético:acetato de etilo (1:3 v/v) y se pasa sobre papel de filtro a una ampolla de decantación. Las porfirinas se extraen con tres porciones de 2 ml c/u de HCl 10% (hasta fluorescencia negativa), se neutraliza con acetato de sodio saturado y se añade 1 ml de ácido acético glacial. Se llevan las porfirinas a fase etérea con tres porciones de 6 ml de éter; el extracto orgánico se lava una vez con 2 ml de carbonato de sodio 1% y luego con 2 ml de agua destilada. Se extraen las porfirinas del extracto etéreo con HCl 25% en dos porciones sucesivas de 1,5 y 0,3 ml. Se colecta la fase clorhídrica en un tubo graduado y se mide la absorbancia a 409 nm. El contenido de Proto por 100 ml de GR se calcula de acuerdo a la siguiente relación:

$$\mu\text{g}/100 \text{ ml GR} = \frac{A^{409} \times v_t \times 36.000}{v_g \times 3 \text{ ml}}$$

donde: v_t = volumen del tubo (ml)

v_g = volumen globular para 100 ml de sangre

36.000 = factor

I.6.4. Determinación de proteínas en sangre

La concentración de proteínas sanguíneas se determinó empleando la metodología de Lowry y col. (1951).

I.7. SEPARACION CROMATOGRAFICA DE PORFIRINAS ESTERIFICADAS

Para conocer el patrón de porfirinas en los extractos clorofórmicos provenientes de los distintos materiales biológicos se empleó la cromatografía en capa delgada [TLC (With, 1975) o HPTLC (Seubert y col., 1979)] o líquida a alta presión [HPLC (Polo y col., 1983)]. Para estudiar el tipo isomérico se usó la cromatografía en papel (Falk y Benson, 1953; Cornford y Benson, 1963; Batlle y Benson, 1966) y la de alta presión (Polo y col., 1983).

I.7.1. Cromatografía en papel

Se utilizaron las técnicas de Cornford y Benson (1963) y Batlle y Benson (1966) basadas en el método original de Falk y Benson (1953).

Para realizar esta cromatografía, la solución clorofórmica en la cual se midieron porfirinas totales esterificadas se llevó a sequedad en un baño de agua a 60-80 °C y el residuo se disolvió en un pequeño volumen de cloroformo y se sembró cuantitativamente sobre una tira de papel Whatman 1 (23 x 9 cm) a 2 cm del borde inferior. Se sembraron testigos de Uroporfirina I y III y Coproporfirina III.

La cromatografía de tipo ascendente se llevó a cabo en 2 etapas, en dos cubas distintas, a temperatura ambiente y en el mismo sentido. El solvente de desarrollo de la primera corrida consistió en la mezcla kerosene:cloroformo/metanol (9:2 v/v) en la relación (6:9 v/v), en atmósfera de cloroformo dejando correr el solvente hasta 1/3 de la hoja de papel luego de lo cual se extrajo el papel y se secó en corriente de aire tibio. Se observó a la luz UV y se marcaron con líneas punteadas las manchas de las porfirinas. Se cortó el papel 0,5 cm por debajo de las mismas para eliminar las impurezas. En este caso la cuba se debió saturar por lo menos 1 hora antes de la

corrida. En la segunda corrida el solvente utilizado fue: kerosene:dioxano (4:1,4 v/v) en atmósfera de dioxano y se corrió hasta que el solvente alcanzó la parte superior del cromatograma (aproximadamente 2 horas 30 minutos). Se retiró el papel y se secó en corriente de aire tibio. La cuba se debió saturar 24 horas antes de la corrida. Se marcó la posición de las manchas por su fluorescencia a la lámpara U.V.

Para determinar cuantitativamente la composición isomérica de las porfirinas se cortaron las manchas fluorescentes de la tira introduciendo cada porfirina en un tubo de Khan, se eluyeron las porfirinas del papel con cloroformo, determinando espectrofotométricamente la concentración de porfirinas correspondiente a cada banda.

1.7.2. Cromatografía en capa delgada (TLC o HPTLC)

La solución clorofórmica de las porfirinas esterificadas (5-10 µg/ml) se sembró sobre una placa (Kieselgel G: 0,25 cm de espesor). Se emplearon placas comerciales de sílica-gel (25 x 25 cm Kieselgel 60, Merck) o las preparadas en el laboratorio. En este último caso, luego de extender una capa delgada de sílica gel sobre una superficie vidriada (25 x 25 cm) se coloca la placa en una estufa a 100-105 °C durante una hora para activar la sílica.

Una vez sembradas las muestras y los testigos de Proto, Isocopro, Copro, Penta, Hexa, Firia y Uro, la placa se sometió a una primera cromatografía ascendente durante 20 minutos en una cuba saturada con benceno:metiletilcetona (20:1,5 v/v) y luego una segunda corrida de 90 minutos en una mezcla de benceno:metanol:acetato de etilo:éter de petróleo (25:1:0,5:3; v/v).

En los casos en que se emplearon cromatoplasmas (10 x 10 cm de sílica-gel 60, Merck), sin indicador de fluorescencia, con zona de concentración para nanocromatografía en lámina fina (HPTLC) el desarrollo del cromatograma se resolvió; en 20 minutos luego de alcanzar las muestras el punto de concentración; en el solvente tolueno:metanol:acetato de etilo (7,5:0,5:2; v/v).

Luego de cada corrida las placas se secaron en corrien

te de aire tibio y una vez terminada la cromatografía, la posición de las porfirinas se determinó por su fluorescencia bajo la luz UV, y se las identificó por los testigos.

Para realizar una determinación cuantitativa de la composición de porfirinas se rasparon las manchas fluorescentes de la placa y se extrajeron las porfirinas con 2 ml de cloroformo y se cuantificaron espectrofotométricamente.

I.7.3. Cromatografía líquida a alta presión

También la separación de las porfirinas esterificadas se realizó en un cromatógrafo líquido a alta presión marca Varian modelo 5000 con inyector provisto de loop (Capacidad 10 μ l), detector de longitud de onda variable, modelo UV 50 y procesador de datos Varian modelo CD 5111; de acuerdo al método desarrollado por Polo y col. (1982; 1983)

La determinación del tipo isomérico se realizó según el método desarrollado por Polo y col. (1984).

I.8. OBTENCION DE LA FUENTE PROTEICA

La sangre se extrajo por punción venosa y se recogió sobre heparina (I.3.). Se determinó el microhematocrito en 0,1 ml y el resto se centrifugó durante 20 minutos a 2000 rpm en una centrífuga refrigerada (International modelo PR-2 o Sorvall RC-5B). Se separaron los leucocitos y el plasma. Los glóbulos rojos se lavaron 2 veces con solución salina fría y se hemolizaron por tres congelamientos (baño de acetona-hielo seco) y descongelamientos (baño de agua a temperatura ambiente) sucesivos. Cuando se empleó sangre entera se hemolizó por la misma técnica de congelamiento y descongelamiento.

Los glóbulos rojos así tratados se denominaron GRH₃.

Para la determinación enzimática de ALA-D; PBG-asa y Deaminasa se utilizó una solución de GRH₃ diluida 15 veces en buffer Tris-HCl 0,05 M pH 7,4; mientras que para el estudio de la actividad del ALA-S, formación de porfirinas a partir de precursores, URO-D y Ferroquelatasa, se empleó la porción GRH₃ sin diluir.

I.9. DETERMINACION DE ACTIVIDADES ENZIMATICAS

I.9.1. ALA-S

La actividad del ALA-S se determinó según Wider de Xifra y col. (1971) agregando Succ-CoA que forma CoA *in situ*.

El sistema standard de incubación contenía 0,5 ml de sangre entera; 0,1 ml de succinato de sodio 1 M; 0,1 ml de CoA 0,005 M; 0,1 ml de cloruro de magnesio 0,1 M; 0,1 ml de ATP 0,1 M; 0,03 ml de glutatión 0,1 M; 0,1 ml de PPy 0,0025 M; 0,2 ml de glicina 0,5 M; 0,02 ml de EDTA 0,1 M; 1 mg de Succ.CoA-S (actividad específica 8-12 μ moles de Succ.CoA/h mg) y buffer Tris-HCl 0,05 M pH 8 hasta un volumen final de 2 ml.

Las incubaciones se llevaron a cabo a 37 °C con agitación mecánica, durante 60 minutos. Se realizaron blancos de reactivos. La reacción se detuvo con 1 ml de TCA 10% y se midió el producto formado (ALA) por condensación del pirrol con acetilacetona (I.4.1.3.).

I.9.2. ALA-D

El ALA-D se midió según el método de Batlle y col. (1967).

El sistema standard de incubación contenía 0,5 ml de GRH₃ diluidos; 0,05 M de buffer fosfato de sodio pH 6,8 y 2,5 μ M de ALA en un volumen final de 2 ml.

La incubación se realizó a 37 °C en aerobiosis, oscuridad y agitación mecánica durante 60 minutos. La reacción se detuvo por el agregado de TCA 50% hasta alcanzar una concentración del 5% en dicho ácido. La proteína precipitada se separó por centrifugación a 2000 rpm durante 10 minutos y en el sobrenadante se determinó la concentración de PBG formado. Se rea-lizaron blancos de actividad enzimática de ALA-D los cuales sólo contenían ALA y buffer, y proteína y buffer. Se definió una unidad enzimática de ALA-D en base a los μ moles de PBG formados por ml de GR a partir de ALA, en 60 minutos, en las condiciones standard descriptas, y la actividad específica como el número de unidades por mg de proteína.

Los nmoles de PBG se calcularon según la siguiente fórmula:

$$\text{nmoles/ml GR} = (A^{555} - A_B^{555}) \times 2,57$$

donde: A^{555} = absorbancia de la muestra

A_B^{555} = absorbancia del blanco

B
2,57 = factor

1.9.3. PBG-asa y Deaminasa

La búsqueda de las condiciones experimentales para la medición de este complejo enzimático están detalladas en Resultados (Capítulo I).

La mezcla de incubación contenía 0,5 ml de GRH₃ diluidos, 30 µg de PBG; 0,05 M de buffer Tris-HCl pH 8,2; 0,25 ml de solución NaCl-MgCl₂ (NaCl 1,7 M-MgCl₂.6 OH₂ 0,12 M; 3,5:1,5 v/v), en un volumen final de 1,5 ml. La presencia de la solución NaCl-MgCl₂ inhibe la actividad de la URO-D de modo que todo el producto de la reacción es Uro.

Las incubaciones se realizaron aeróbicamente, en oscuridad y con agitación mecánica durante 120 minutos. La temperatura de incubación para PBG-asa fue de 37 °C y para Deaminasa de 45 °C.

Finalizada la incubación, la enzima se desnaturalizó por agregado de TCA 10% hasta una concentración final de 5% en dicho ácido y la mezcla se expuso a la luz blanca (50 bujías pie) durante 20 minutos para oxidar los porfirinógenos a porfirinas. Luego se centrifugó a 2000 rpm durante 15 minutos y se midieron en el sobrenadante las absorbancias de las porfirinas formadas. Se hicieron blancos de actividad los cuales contenían sólo PBG y buffer. De esta forma todos los datos de actividad fueron corregidos, considerando las porfirinas formadas no enzimáticamente.

La cantidad de porfirinas formadas se calculó según la siguiente expresión:

$$\text{nmoles porfirinas} = [2 A^{\text{max}} - (A^{380} + A^{430})] \times v \times \text{dil} \times 1,008$$

donde: v = volumen de la solución

dil = dilución de la fuente proteica

1,008 = factor correspondiente para Uro en HCl 5%

Se definió una unidad enzimática como la cantidad de enzima capaz de sintetizar un nmol de porfirinas en 1 hora , bajo las condiciones experimentales antes descriptas. La actividad específica se expresa, entonces, como nmol de porfirinas formadas en 1 hora por mg de proteína.

I.9.4. URO-D

Para la estimación de la actividad enzimática se siguieron los procedimientos descriptos por Afonso y col. (1984).

El sistema standard de incubación contenía 0,5 ml de GRH₃ o bien 1 ml de hemolizado de sangre entera, 12 µM de Urogen III ó I; 0,067 M de buffer fosfato de sodio pH 7,0; 0,1 mM de EDTA y agua destilada hasta completar un volumen final de 3 ml.

La incubación se realizó en anaerobiosis, oscuridad, con agitación mecánica constante a 37 °C durante 60 minutos.

La reacción se detuvo por agregado de TCA 20% hasta alcanzar una concentración de 5% en dicho ácido. Los porfirinógenos se oxidaron a porfirinas por exposición a la luz blanca durante 20 minutos.

Las porfirinas se separaron por centrifugación a 2000 rpm durante 10 minutos y se lavó el precipitado (3-4 veces) con TCA 5% hasta fluorescencia negativa. Las porfirinas presentes se midieron espectrofotométricamente en un espectrofotómetro Beckman Modelo 35. luego se secaron en desecador al vacío o se absorbieron sobre Dowex 1X-8 y se esterificaron como se describió anteriormente. Las porfirinas esterificadas se cromatografiaron por TLC o HPTLC.

Se definió una unidad enzimática de URO-D en base a los nmoles de producto formado (Firia + Hexa + Penta + Copro) a partir de Urogen , en 60 minutos.

I.9.5. Ferroquelatasa

La determinación se realizó según de Goeij y col. (1975) y Stella y col. (1981).

El sistema standard de incubación contenía 0,5 ml de GRH₃; 50 nmoles de Proto en 0,1 M de buffer Tris-HCl pH 8,2; 10 μ moles de GSH; 0,1 ml de etanol y 0,1 M buffer Tris-HCl pH 7,5 en un volumen total de 1,5 ml. La preincubación se realizó durante 5 minutos a 37 °C en anaerobiosis y agitación mecánica. Luego se agregaron 0,05 ml de una solución 200 mM de FeSO₄. La incubación continuó por dos horas en las mismas condiciones de la preincubación. La reacción se detuvo por el agregado de TCA 50% hasta alcanzar una concentración final de 5% en dicho ácido. Se agregó hematina (8-12 μ g) y se extrajo con acetato de etilo:ácido acético glacial (4:1 v/v). La fase orgánica se lavó varias veces con agua y luego una vez con 2,5 ml de HCl 1,5 N para separar la Proto la cual se midió espectrofotométricamente. Se efectuaron blancos de actividad los cuales no contenían el sustrato metálico o la porfirina, o la sangre.

La actividad se expresó en pmoles de proto-hemo formado por hora y por mg de proteínas.

I.10. BIOSINTESIS DE PORFIRINAS A PARTIR DE PRECURSORES

Para llevar a cabo esta determinación se siguió el procedimiento descrito por Batlle y col. (1979).

El sistema de incubación contenía 0,5 ml de GRH₃ sin diluir; 0,05 M de buffer Tris-HCl pH 7,4; 5 μ M de ALA en un volumen final de 1,5 ml. La incubación se realizó a 37 °C en aerobiosis, oscuridad y agitación constante durante 2,4 y 8 horas.

La reacción enzimática se detuvo por el agregado de TCA 10% de manera de alcanzar una concentración final de ácido del 5%, luego de lo cual se procedió de la misma forma que en la determinación de PBG-asa (I.9.3.).

Se efectuaron blancos de actividad enzimática los cuales contenían ALA y buffer, y proteínas y buffer.

Con el objeto de estudiar el patrón y tipo isomérico de las porfirinas formadas, es que se realizó el siguiente pro

cedimiento: las porfirinas se secaron en un desecador al vacío luego de lo cual se esterificaron con mezcla metanol:sulfúrico 5% (v/v) durante 24 a 36 horas en oscuridad. Una vez esterificadas las porfirinas se extrajeron con cloroformo y se cuantificaron espectrofotométricamente.

La determinación de la composición isomérica del extracto clorofórmico se efectuó mediante cromatografía en papel y/o por cromatografía líquida a alta presión.

I.11. REFERENCIAS

- Afonso, S.; Chinarro Familiar, S.; Stella, A.; Batlle, A.; Lenczner, M. & Magnin, P. Rev. arg. Dermatol. 66 (1985) 12.
- Batlle, A. & Benson, A. J. Chromatogr. 25 (1966) 117.
- Batlle, A.; Ferramola, A. & Grinstein, M. Biochem. J. 104 (1967) 244.
- Batlle, A.; & Grinstein, M. Biochim. Biophys. Acta 57 (1962) 191.
- Batlle, A.; Wider de Xifra, E.; Stella, A.; Bustos, N.; Vázquez, E. & Magnin, P. Rev. Arg. Dermatol. Sif. 60 (1979) 102.
- Cookson, G. & Rimington, C. Biochem. J. 57 (1954) 476.
- Cornford, P. & Benson, A. J. Chromatog. 10 (1963) 141.
- Falk, J. & Benson, A. Biochem. J. 55 (1953) 101.
- Goeij, A. de; Christianse, K. & Van Steveninck, I. Clin. Exp. Dermatol. 2 (1975) 351.
- Lowry, O.; Rosenbrough, N.; Farr, L. & Randall, R. J. Biol. Chem. 193 (1951) 265.
- Mauzerall, D. & Granick, S. J. Biol. Chem. 219 (1956) 435.
- Moore, D. & Labbe, R. Clin. Chem. 10 (1964) 1105.
- Piomelli, S. Clin. Chem. 23 (1977) 264.
- Polo, C.; Parera, V.; Stella, A.; Wider, E. & Batlle, A. XVI Congreso Argentino de Química, 19-24 Setiembre (1982).
- Polo, C.; Schoua, A. & Batlle, A. (1985) en preparación.
- Polo, C.; Stella, A.; Wider, E.; Batlle, A.; Lenczner, J.; Altuna, L. & Magnin, P. Prensa Med. Arg. 70 (1983) 433.
- Rimington, C. Ass. Clin. Pathol. Broadsheet (NS) 36 (1961) 1.
- Rimington, C. & Sveinsson, S. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 2 (1950) 209.
- Sancovich, H.; Batlle, A. & Grinstein, M. Methods in Enzymology 17 (1970) 220.
- Seubert, A. & Seubert, S. Curso sobre Porfirinas y Porfirias. Etiopatogenia, Clínica y Tratamiento (Parte Práctica) (1983). CIPYP - FCE y N (UBA) y CONICET.

- Seubert, A.; Seubert, S. & Ippen, H. Dt. Med. Wschr. 104 (1979) 1459.
- Stella, A.; Wider de Xifra, E.; Lenczner, J.; Magnin, P. & Batlle, A. Rev. Arg. Dermatol. 62 (1981) 7.
- Wider de Xifra, E.; Batlle, A. & Tigier, H. Biochim. Biophys. Acta 235 (1971) 511.
- With, T. Dan. Med. Bull. 22 (1975) 74.

RESULTADOS Y DISCUSION

C A P I T U L O I

UN METODO SIMPLE PARA LA MEDICION DE PBG-ASA EN
ERITROCITOS Y SU APLICACION EN EL DIAGNOSTICO
DE LA PORFIRIA AGUDA INTERMITENTE

I. UN METODO SIMPLE PARA LA MEDICION DE LA PBG-asa EN ERITROCITOS Y SU APLICACION EN EL DIAGNOSTICO DE LA PORFIRIA AGUDA INTERMITENTE

I.1. INTRODUCCION

Recordemos que la PBG-asa, que es una combinación de dos enzimas, la Deaminasa y la Isomerasa, cataliza la conversión de 4 moles de PBG en uno de Uroporfirinógeno III (Urogen III); en ausencia de Isomerasa, la Deaminasa también conocida como Uroporfirinógeno I Sintetasa, forma Urogen I (Batlle y Rossetti, 1977).

La medición de estas enzimas es un elemento fundamental para el diagnóstico de la PAI tanto en pacientes clínicamente manifiestos cuanto más en portadores asintomáticos de esta enfermedad. Si bien se habían desarrollado algunos métodos para estos fines (Strand y col., 1972; Granick y col., 1972; Meyer, 1973; Magnussen y col., 1974); la mayoría de ellos no tuvo una gran aplicación por cuanto implicaban el uso de equipos especializados o bien los volúmenes y muestras que se manipulaban tampoco eran de uso corriente en la mayoría de los laboratorios. En base a ello, y a nuestra larga experiencia con la PBG-asa (Batlle, 1973; Batlle y Rossetti, 1977 y referencias allí indicadas), se decidió desarrollar el método presente que, además de superar los inconvenientes señalados es altamente reproducible y de fácil aplicación tanto en laboratorios clínicos como de investigación dotados de equipos simples.

I.2. MATERIALES Y METODOS

Las muestras de sangre se obtuvieron de voluntarios sanos y diferentes pacientes porfíricos, según las indicaciones dadas en Materiales y Métodos (I.8.1.).

Los GR se hemolizaron siguiendo tres procedimientos diferentes:

- a) Por congelamiento - descongelamiento (H): Los glóbulos rojos (GR) se lisaron por un congelamiento-descongelamiento repetido (1-5 veces), congelando las muestras en un baño de acetona-hielo seco seguido de descongelamiento en baño de

agua a temperatura ambiente.

- b) Lisis osmótica (L.O.): Se llevó a cabo agregando 1 volumen de GR a 2 volúmenes de agua destilada fría (4 °C) según Batlle y Grinstein (1964).
- c) Ultrasonido (U.S.): Se agregaron 2 volúmenes de agua destilada fría a 1 volumen de GR, y la mezcla en un baño de hielo se sometió a sonicación en un Sonicador MSE (a 220 V y ± 1 A) durante 30 y 60 segundos (en dos períodos de 30 segundos cada vez).

- Determinación de la actividad de PBG-asa: salvo otra indicación, la mezcla de incubación contenía 0,5 ml de hemolizado de GR (previamente diluidos según se indique); 0,7 ml de buffer Tris-HCl 0,05 M pH 8,2-8,3; 0,25 ml de una mezcla de NaCl:MgCl₂ (conteniendo 1,7 M NaCl:0,12 M MgCl₂, 7:3 v:v) y 30 µg de PBG (en 0,05 ml del mismo buffer), en un volumen final de 1,5 ml a pH 8,2. Se incubó aeróbicamente, en la oscuridad, con agitación mecánica constante, a 37 y 45°C (según se muestre) y a diferentes intervalos de tiempo. Se hicieron blancos para descontar las porfirinas formadas no enzimáticamente. Luego de la incubación, se detuvo la reacción mediante el agregado de 1,5 ml de TCA, hasta una concentración final de 5% (peso/vol) y la mezcla se trató según la metodología de Llambías y Batlle (1971). En el sobrenadante se midieron espectrofluorométrica y espectrofotométricamente las porfirinas formadas. El fraccionamiento, identificación y cuantificación de las porfirinas, así como otros métodos y materiales no especificados aquí, fueron aquellos descritos en Materiales y Métodos.

La actividad de PBG-asa (o Deaminasa) se expresa como nmoles de porfirinas formadas por ml de GR por hora o bien como nmoles totales de porfirinas formadas en el sistema de incubación standard.

I.3. RESULTADOS Y DISCUSION

I.3.1. Lecturas espectrofotométricas y fluorimétricas

Uno de los objetivos de este trabajo fue comparar los resultados obtenidos empleando espectrofotometría y fluorometría y determinar las condiciones para medir PBG-asa usando simplemente lecturas espectrofotométricas. Como se puede ver en la Figura I.1., cuando la dilución final del hemolizado estuvo por arriba de 1:80, las lecturas espectro y fluorométricas fueron similares. En consecuencia se adoptó la técnica espectrofotométrica empleando una dilución final de 1:15 ó 1:45 de GR hemolizados.

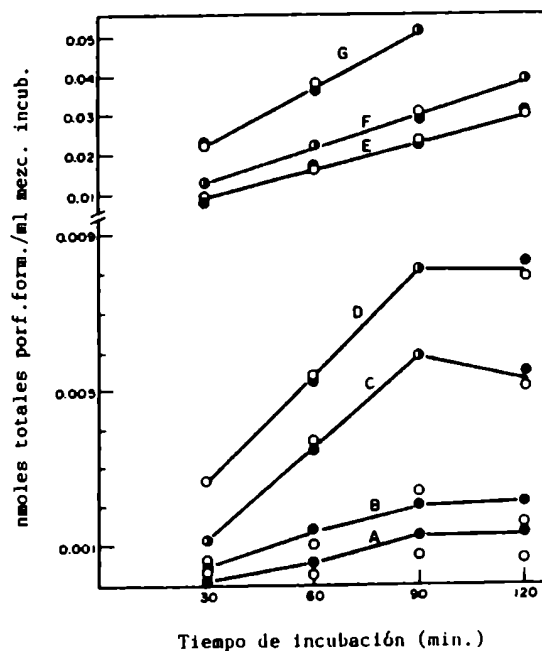


Figura I.1.: Lecturas espectrofotométricas y fluorimétricas midiendo la actividad de la PBG-asa en las condiciones descriptas en el texto a 37 °C y a los tiempos indicados usando lisis osmótica de los GR a una dilución final:
 A = 1:240; B = 1:160; C = 1:80; D = 1:45;
 E = 1:40; F = 1:30; G = 1:15
 O: Espectrofotometría; ●: Fluorimetría

I.3.2. Efecto del método utilizado para obtener el hemolizado, concentración proteica, tiempo y temperatura de incubación

Como hemos descripto en la sección I.2., se usaron tres métodos diferentes para lisar los GR. Los resultados obtenidos se muestran en las Figuras I.2. y I.3. Se encontró que el congelamiento-descongelamiento repetido (Figura I.2.A, B, C) fue más efectivo que la lisis osmótica (Figura I.3.A) mientras que la ruptura por sonicación inactivó completamente a la PBG-asa (Figura I.3.B, C). Hubo poca diferencia entre 1, 2, 4 y 5 congelamientos-descongelamientos (Figura I.2.) y aparentemente 3 congelamientos-descongelamientos sucesivos produjo la actividad máxima por lo cual se seleccionó como el mejor procedimiento para la lisis.

De estas mismas figuras se observa que hubo una relación lineal entre la formación de porfirinas y el tiempo de incubación hasta las 2 horas y como era de esperar, la actividad fue mayor cuando las incubaciones se realizaron a 45 °C con respecto a 37 ° C. También hubo correlación entre la actividad y la concentración proteica; así fue mayor para las diluciones 1:15 con respecto a 1:45. No se apreciaron cambios críticos en la cinética de la reacción. Se estableció que la actividad puede medirse segura y reproduciblemente ya sea a 37 °C como a 45 °C. Finalmente se usaron diluciones 1:15; 45 ° C y 1 hora como temperatura y tiempo de incubación standard.

También se determinó que el pH óptimo de la reacción fue 8,2-8,3 en buffer Tris-HCl 0,05 M y el Km tanto a 37 °C como a 45 ° C fue de $2 \times 10^{-5}M$, pero la V máxima a 45 ° C fue el doble de la V máxima a 37 °C.

I.3.3. Estabilidad de la enzima

Se determinó la estabilidad de la PBG-asa midiendo la actividad catalítica a diferentes intervalos de tiempo en GR hemolizados por 3 congelamientos-descongelamientos repetidos, diluidos 1:15 y mantenidos a -20 °C. Como puede verse en la Tabla I.1. no hubo inactivación significativa dentro de los primeros 28 días, durante las dos semanas subsiguientes ocurrió un 60% de pérdida.

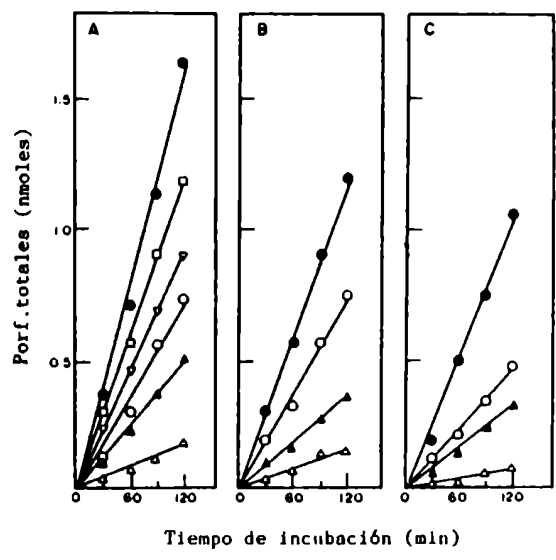


Figura 1.2.: *Preparación del hemolizado por repetido congelamiento-descongelamiento. Efecto del número de descongelamiento, dilución final, tiempo y temperatura de incubación sobre la actividad.*
Se usaron GR de individuos normales. Los hemolizados se prepararon como se describe en I.2. Se usaron diluciones de 1:15 (○, ●, □, ▽) y 1:45 (△, ▲) de GR hemolizados para medir PBG-asa a 37 °C (○, △) y 45 °C (●, ▲, □, ▽) durante los tiempos de incubación indicados en las condiciones standard. Hemolizados obtenidos por congelamiento-descongelamiento. A = 3 veces (○, ●, △, ▲), dos veces (□, ▽), 1 vez (▽); B = 4 veces; C = 5 veces.

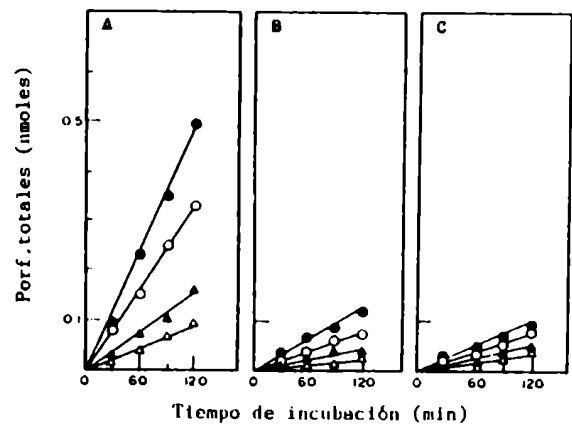


Figura 1.3.: *Preparación del hemolizado por lisis osmótica (A) y ultrasonido (B = 30 segundos, C = 60 segundos), como se describe en I.2., empleando GR normales. Se usaron diluciones 1:15 (○, ●) y 1:45 (△, ▲) para medir la actividad de PBG-asa a 37 °C (○, △) y 45 °C (●, ▲), a los tiempos de incubación indicados en las condiciones standard.*

Tabla I.1.: Estabilidad de la PBG-asa de GR

TIEMPO DE ESTACIONAMIENTO (días)	TEMPERATURA DE INCUBACION (°C)	ACTIVIDAD	
		($\frac{\text{nmoles}}{\text{ml GR}}$ /h)	%
0	37	43,8	100,0
	45	97,2	100,0
7	37	40,6	92,4
	45	83,1	85,1
14	37	41,4	94,2
	45	83,1	85,1
21	37	40,2	92,0
	45	91,9	93,1
28	37	37,6	86,2
	45	82,6	85,0
35	37	24,9	56,8
	45	67,9	69,9
42	37	19,5	44,3
	45	39,9	41,0

Los detalles se dan en el texto. Se tomaron muestras a los tiempos indicados y se midió actividad en las condiciones standard descriptas. Las actividades también se expresan como porcentajes remanentes, tomando la del control original como 100%.

I.3.4. Actividad de PBG-asa en individuos normales y en pacientes con distintos tipos de porfiria

Empleando esta metodología se midió la PBG-asa en 25 individuos normales y en algunos pacientes con diferentes tipos de porfiria (Tabla I.2.). Como era de esperar la actividad de los pacientes con PAI clínicamente manifiesta estaba reducida mientras que en PPE y PCT los niveles estuvieron dentro del rango normal o ligeramente aumentados.

Tabla I.2.: *Actividad de PBG-asa en GR hemolizados, excreción urinaria de ALA y PBG, en individuos normales y diferentes tipos de pacientes porfíricos*

C A S O S	ORINA		SANGRE
	ALA	PBG	PBG-asa
	mg/24 h	mg/24 h	$\frac{\text{nmoles porf.}}{\text{ml GR}}/\text{h}$
Controles (n = 25)	1,3 ± 0,7	2,1 ± 0,2	39,9 ± 7,0
PAI clin. manif.(n=23)	30	80	23,0 - 27,0
PPE (n = 4)	2-5	1-2	32,5 - 35,6
PCT (n = 3)	1-5	0,5 - 2,5	40,0 - 46,0

Las condiciones experimentales se describen en el texto (las edades de controles y pacientes estuvieron entre los 20 y 35 años).

I.4. CONCLUSIONES Y RESUMEN

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se ha desarrollado un método simple para la determinación de la actividad de la PBG-asa de eritrocitos, que permite una segura medición de las porfirinas y puede realizarse en cualquier laboratorio de investigación o clínico.

Los GR se hemolizan por 3 congelamientos-descongelamientos sucesivos, se diluyen 15 veces y sólo se usa 0,5 ml de esta preparación para la determinación de la PBG-asa, en un sistema de incubación que contiene 20 µg de PBG/ml (30 µg/0,05 ml); 0,25 ml de la mezcla NaCl:MgCl₂; 0,05 M buffer Tris:HCl pH 8,2, en un volumen de 1,5 ml; se incubaba aeróbicamente, en oscuridad, a 37 °C durante 2 horas con agitación.

La actividad enzimática se detiene con TCA, concentración final 5%.

Se oxidan los porfirinógenos formados, la proteína

precipitada se descarta y las uroporfirinas presentes se miden espectrofotométricamente en el sobrenadante.

La enzima es estable hasta 1 mes guardada a -20°C .

La aplicación del método en pacientes con PAI, ha confirmado la existencia de una PBG-asa reducida en estos enfermos.

I.5. REFERENCIAS

- Batlle, A. Int.J. Biochem. 4 (1973) 425.
- Batlle, A. & Grinstein, M. Biochim. Biophys. Acta 82 (1964) 1.
- Batlle, A. & Rossetti, M. Int. J. Biochem. 8 (1977) 259.
- Granick, S.; Sassa, S.; Granick, S.; Levere, R. & Kappas, A. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 69 (1972) 2381.
- Llambías, E. & Batlle, A. Biochem. J. 107 (1971) 327.
- Magnussen, C.; Levine, J.; Doherty, J.; Cheesman, J. & Tschudy, D. Blood 14 (1974) 857.
- Meyer, U. Enzyme 16 (1973) 334.
- Strand, L.; Meyer, U.; Felsher, B.; Redecker, A. & Marver, H. J. Clin. Invest. 51 (1972) 2530.

C A P I T U L O I I

BIOSINTESIS DE PORFIRINAS Y ESTUDIOS ENZIMATICOS EN
ERITROCITOS DE INDIVIDUOS NORMALES Y PORFIRICOS

II. BIOSINTESIS DE PORFIRINAS Y ESTUDIOS ENZIMATICOS EN ERI- TROCITOS DE INDIVIDUOS NORMALES Y PORFIRICOS

II.1. INTRODUCCION

Recordemos una vez más que las porfirias, hereditarias o adquiridas, son enfermedades caracterizadas por la combinación de una síntesis aumentada, acumulación y excreción de porfirinas y/o precursores debida a defectos enzimáticos en el metabolismo del hemo.

Además de los síntomas clínicos, el típico patrón bioquímico de excreción es una herramienta útil para la identificación de las distintas porfirias. Sin embargo, no siempre el estudio de los perfiles de excreción urinaria y fecal provee información suficiente como para establecer un diagnóstico diferencial y preciso; de manera que muchas veces es necesaria la determinación de la actividad de la enzima específicamente deficiente.

Se ha observado, tanto en nuestro laboratorio como en otros (Doss, 1973; Schermuly y Doss, 1976; Viljoen y col., 1976; Miyagi y col., 1976; Batlle y col., 1979 a, b; Alleman y col., 1982; Magnin y col., 1982; Stella y col., 1982) que en la mayoría de las porfirias se puede obtener información sobre el defecto enzimático y el carácter hereditario de las mismas realizando estudios *in vitro* sobre la biosíntesis de porfirinas eritrocitarias a partir de ALA o PBG, bajo distintas condiciones experimentales y también por mediciones enzimáticas directas.

En este Capítulo sólo presentaremos los resultados obtenidos estudiando la biosíntesis de porfirinas a partir de ALA exógeno a distintos tiempos de incubación, empleando hemolizados de glóbulos rojos provenientes de sujetos normales y de pacientes con: Intoxicación por Plomo, PAI, PCT, PPE, PV y PCE. También se han determinado las actividades de ALA-D, PBG-asa y Deaminasa en dichos hemolizados.

II.2. MATERIALES Y METODOS

La obtención de las muestras de sangre, la preparación de los hemolizados, las condiciones de incubación, el fraccionamiento, identificación y determinación cuantitativa de las porfirinas formadas, se realizaron según se detalla en la Sección Materiales y Métodos de este Trabajo. La velocidad de la biosíntesis de porfirinas a partir de precursores se expresa en nmoles de porfirinas formadas por ml de GR en los intervalos de tiempo indicados. El ALA-D se determinó por el método de Batlle y col. (1967). PBG-asa y Deaminasa se midieron de acuerdo a lo indicado en Materiales y Métodos.

Unidades enzimáticas: se define una unidad enzimática como la cantidad de enzima que cataliza la formación de un nmol de producto en 60 minutos, bajo las condiciones standard de incubación, y las actividades enzimáticas se expresan en unidades por ml de GR.

II.3. RESULTADOS Y DISCUSION

II.3.1. Determinaciones enzimáticas

Los resultados obtenidos se presentan en la Figura II.1. En la intoxicación por Pb, como se sabe, el ALA-D está significativamente inhibida, llamativamente en este grupo de sólo 9 pacientes se encontró que las actividades de PBG-asa y Deaminasa estaban incrementadas en un 15-20%.

Estos resultados no son fáciles de explicar porque se ha demostrado que concentraciones de Pb del orden μ molar a mmolar, inhiben el consumo de PBG y la formación de porfirinas por estas enzimas, dependiendo del tejido (Llambías y Batlle, 1971; Piper y Tephly, 1974; Sancovich y col., 1976; Tephly, 1979). Sin embargo, es interesante agregar que los niveles de PBG urinario en estos pacientes fueron normales. Probablemente la acumulación de Pb en los tejidos no fue lo suficientemente grande como para inhibir la conversión de PBG a porfirinas *in vivo*, como para traducirse en su acumulación y una aumentada excreción en orina. Parece ser, entonces, que, dependiendo de si la excreción de PBG en orina está aumentada o no, podemos esperar que los niveles de actividad de PBG-asa y Deamina-

sa en eritrocitos sean menores o mayores que los normales.

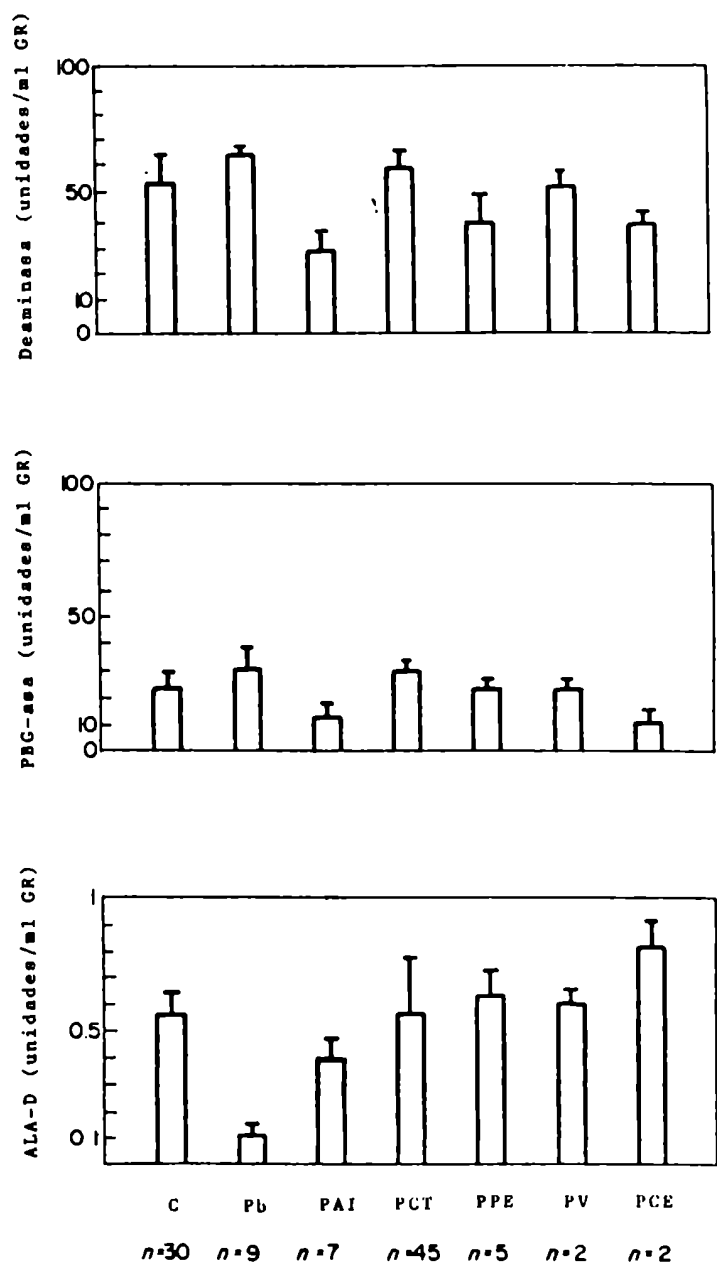


Figura II.1.: *Determinaciones enzimáticas. Cada medición se realizó por duplicado y en muchos pacientes se repitió periódicamente.
n = nº de casos*

Se encontró que en PAI, no sólo la PBG-asa y la Deaminasa están reducidas a la mitad sino, también, que la actividad de ALA-D está disminuida en un 25-30%. En PCT, ya sea hereditaria o adquirida, el ALA-D no está modificada, a pesar de que los valores obtenidos estaban dentro de un rango de variabilidad muy amplio, mientras que la PBG-asa y la Deaminasa están levemente aumentadas; en algunos casos en que se determinó ALA-S, su actividad estaba incrementada en un 25-50%. Curiosamente, el ALA-D en PPE y PCE está 30, 20 y 50% respectivamente por arriba del valor normal; este incremento en la actividad del ALA-D también se observó en sangre y en hígado de un toro con PCE (Batlle y col., 1979 b). Además, tanto nosotros como otros investigadores hemos encontrado en pacientes y en animales con PCE que el ALA-S está incrementada de 2 a 4 veces en sangre y en médula ósea (Moore y col., 1978; Batlle y col., 1979 a). Por lo tanto, puede ser que en los últimos cuatro tipos de porfiria, el aumento en la actividad de ALA-D se podría interpretar como una consecuencia de un exceso del sustrato ALA. La PBG-asa no está modificada en PPE y PV, pero está reducida un 60% en PCE, mientras que la Deaminasa fue un 20% menor en PPE y PCE. Estos hallazgos pueden sugerir, por lo menos en estos dos pacientes con PCE, que una actividad disminuida de Isomerasa sería el defecto enzimático primario de acuerdo con la hipótesis de Levin (1968). De todos modos, se ha demostrado que en algunos casos de PCE en humanos y en animales, son coexistentes tanto una disminución en la actividad de Isomerasa como un aumento en la actividad de Deaminasa (Moore y col., 1978; Batlle y col., 1979 a) apoyando el hecho de que la PCE es fenotípicamente homogénea en la mayoría de los aspectos pero genéticamente heterogénea, o sea que el error congénito en la biosíntesis de porfirinas puede variar entre diferentes casos de PCE (Hofstad y col., 1973). En general, cada caso debe estudiarse en forma individual para poder establecer conclusiones significativas.

II.3.2. Actividad Biosintética

II.3.2.1. Biosíntesis de porfirinas totales

Si bien las fallas primarias en las porfirias se encuentran localizadas a nivel hepático y en médula ósea, los estudios sobre la biosíntesis de porfirinas a partir de precursores, ALA y PBG, por hemolizados de GR pueden contribuir a una mejor interpretación de los patrones de excreción en las distintas porfirias, así como proveer mayor información acerca del defecto enzimático específico y de la naturaleza hereditaria. Tiene la ventaja de que la síntesis no puede ir más allá de Protoporfirina, lo cual simplifica el análisis de los perfiles de porfirinas formadas.

Como estamos presentando resultados obtenidos usando ALA como sustrato, los casos de intoxicación por Pb se excluyen a partir de este momento.

En la Figura II.2. se ilustran las porfirinas totales formadas por hemolizados provenientes de individuos sanos y diferentes tipos de porfíricos a 2,4 y 8 horas de incubación. Debe hacerse notar que también se realizaron incubaciones más prolongadas, llegando hasta 24 horas. Cuanto mayor es el tiempo de incubación mayor es la proporción de isómeros I encontrada, por lo tanto, no es posible hacer inferencias válidas de estos experimentos.

Como es bien conocido, en general, la biosíntesis total de porfirinas es una función del tiempo (Doss, 1976; Battie y col., 1979 a y b). En la PCT, la formación de porfirinas está significativamente aumentada comparada con los controles. Más aún, estos hallazgos están de acuerdo con la excreción aumentada de porfirinas urinarias y sugerirían que la actividad de una o más enzimas después del ALA-S estaría elevada. Se encontró que la PBG-asa y la Deaminasa eran levemente mayores que en los normales (Figura II.1.), Doss (1976) había postulado que la actividad de la Deaminasa debía estar aumentada en la PCT. De todos modos, esto no termina de explicar la constelación típica de porfirinas excretadas en PCT; es necesario aún un análisis de la distribución de las porfirinas.

Como se esperaba, en la PAI a cortos intervalos, la síntesis de porfirinas estaba reducida 45-50% (Doss, 1973;

Batlle y col., 1979 b), ésto puede deberse al conocido defecto enzimático de la Deaminasa, pero debemos tener en cuenta la disminución de actividad de ALA-D encontrada aquí; lo cual está de acuerdo con las cantidades anormalmente aumentadas de PBG y ALA excretadas en orina por pacientes de PAI, y que puede ser de utilidad como diagnóstico.

No se advierten diferencias significativas entre las porfirinas totales formadas en PPE, PV y PCE y los controles, por lo tanto para conocer el tipo de porfirinas y sus isómeros formados es necesario determinar el patrón de biosíntesis de porfirinas para cada caso.

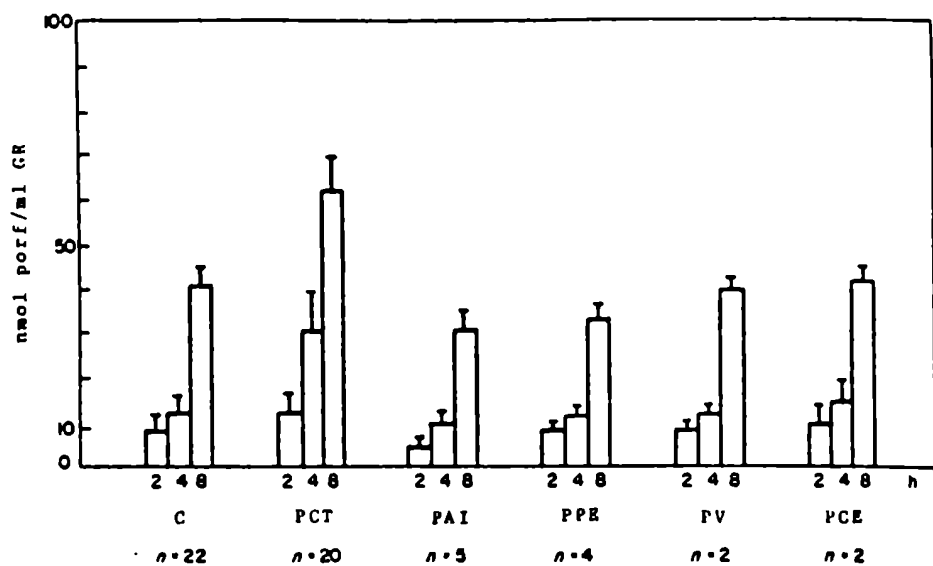


Figura II.2.: Biosíntesis total de porfirinas por hemolizados de controles normales (C) y pacientes con distintos tipos de porfiria, luego de 2, 4 y 8 horas de incubación. Cada experiencia se realizó por duplicado.

II.3.2.2. Biosíntesis de porfirinas totales en PCT y PAI

Consideramos de interés, determinar si se observaba algún cambio en la biosíntesis de porfirinas en hemolizados de pacientes con PCT hereditaria y PAI antes y después de la terapia. Como se muestra en la Figura II.3.B, la respuesta a la primera parte de la pregunta es claramente negativa. En cambio en la Figura II.3.A., la síntesis fue 1,3 a 2 veces mayor que el valor control, para PCT hereditaria y no hereditaria respectivamente. Hay una clara y neta diferencia entre uno y otro caso, siendo correlativa con el gran aumento de actividad de Deaminasa y PBG-asa, que confirma resultados anteriores (Batlle y

col., 1979 b).

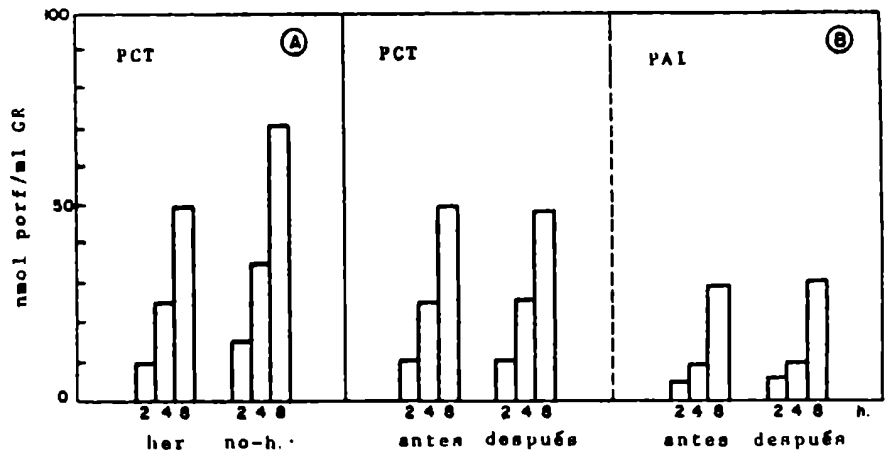


Figura II.3.: Biosíntesis de porfirinas totales, luego de 2, 4 y 8 horas de incubación de hemolizados de:
A: pacientes con PCT hereditaria (her) y no-hereditaria (no-h);
B: pacientes con PCT y PAI antes y después de la terapia.

II.3.2.3. Distribución de porfirinas biosintéticas

Se muestra en la Figura II.4. el patrón de porfirinas sintetizadas por hemolizados de controles y porfíricos, a partir de ALA, correspondiente a 2, 4 y 8 horas de incubación.

En general, la proporción de porfirinas altamente carboxiladas, principalmente Uro, aumenta con el tiempo de incubación, en tanto que la de las de menor número de carboxilos, como Copro, disminuye. Se ha confirmado que la distribución de porfirinas en PCT es diferente de la normal y muy típica, luego de dos horas de incubación se observa síntesis aumentada de Uro y Firia-porfirinas, y una disminución en los porcentajes de Hexa y Copro-porfirinas, aunque sus concentraciones absolutas están dentro de los valores normales. Estos resultados indican claramente un defecto en la actividad de Urogen-decarboxilasa, lo cual ha sido observado en pacientes sintomáticos de PCT y en sus parientes con PCT latente (Doss, 1976; Batlle y col., 1979 b) y puede ser de significancia diagnóstica.

Es interesante destacar que a tiempos de incubación menores, la distribución de las porfirinas en PAI es muy similar a la de los controles (Doss, 1973) excepto que el porcentaje de Copro es menor y Uro III está levemente disminuida res

pecto del valor normal. Debemos recordar que la cantidad total de porfirinas es 45-50% menor, lo cual compatibiliza con el defecto ya demostrado, en la actividad de Deaminasa y ALA-D.

En PV se observa un patrón de porfirinas muy similar al visto en PCT.

Sabemos que es de gran importancia para el diagnóstico diferencial el análisis cualitativo de porfirinas en orina y materia fecal. dado que, como hemos observado en PV, las enzimas ALA-D, PBG-asa y Deaminasa no parecen modificadas, sería interesante medir el nivel de Urogen-decarboxilasa, teniendo en cuenta que la proporción de porfirinas altamente carboxiladas es muy elevada.

En PCE, el cuadro general no es muy distinto del patrón normal, aunque el isómero dominante es Uro I. La decarboxilación, aparentemente no está afectada, pero la baja proporción de Uro III refleja un defecto a nivel de la Isomerasa, lo que coincide tanto con la constelación típica de porfirinas excretadas en PCE, como con las determinaciones enzimáticas. Sin embargo, la PCE es una enfermedad rara y puede expresarse genéticamente en varias formas. Esta clase de estudios son útiles para distinguir la naturaleza de los errores congénitos.

II.3.2.4. Patrones de porfirinas biosintéticas en casos de PCT hereditaria y no hereditaria y PAI antes y después de la terapia

Se ve en la Figura II.2. que hay diferencias entre la cantidad total de porfirinas formadas por hemolizados provenientes de pacientes con PCT no hereditaria y hereditaria. Era importante establecer si esas diferencias eran sólo cuantitativas o si había algún cambio cualitativo. Por ello se estudió la distribución de porfirinas biosintéticas en pacientes con PCT y con PAI antes y después de la terapia.

Como podemos ver en la Figura II.5., el patrón de porfirinas producido por PCT hereditaria es algo diferente del encontrado en PCT no hereditaria. Después de 4 y 8 horas de incubación, el porcentaje de porfirinas octacarboxílicas es mayor en la primera que en la segunda, como si el primer paso de la decarboxilación estuviera más inhibido aquí, a pesar de que después de las 2 horas el efecto fue aparentemente opuesto.

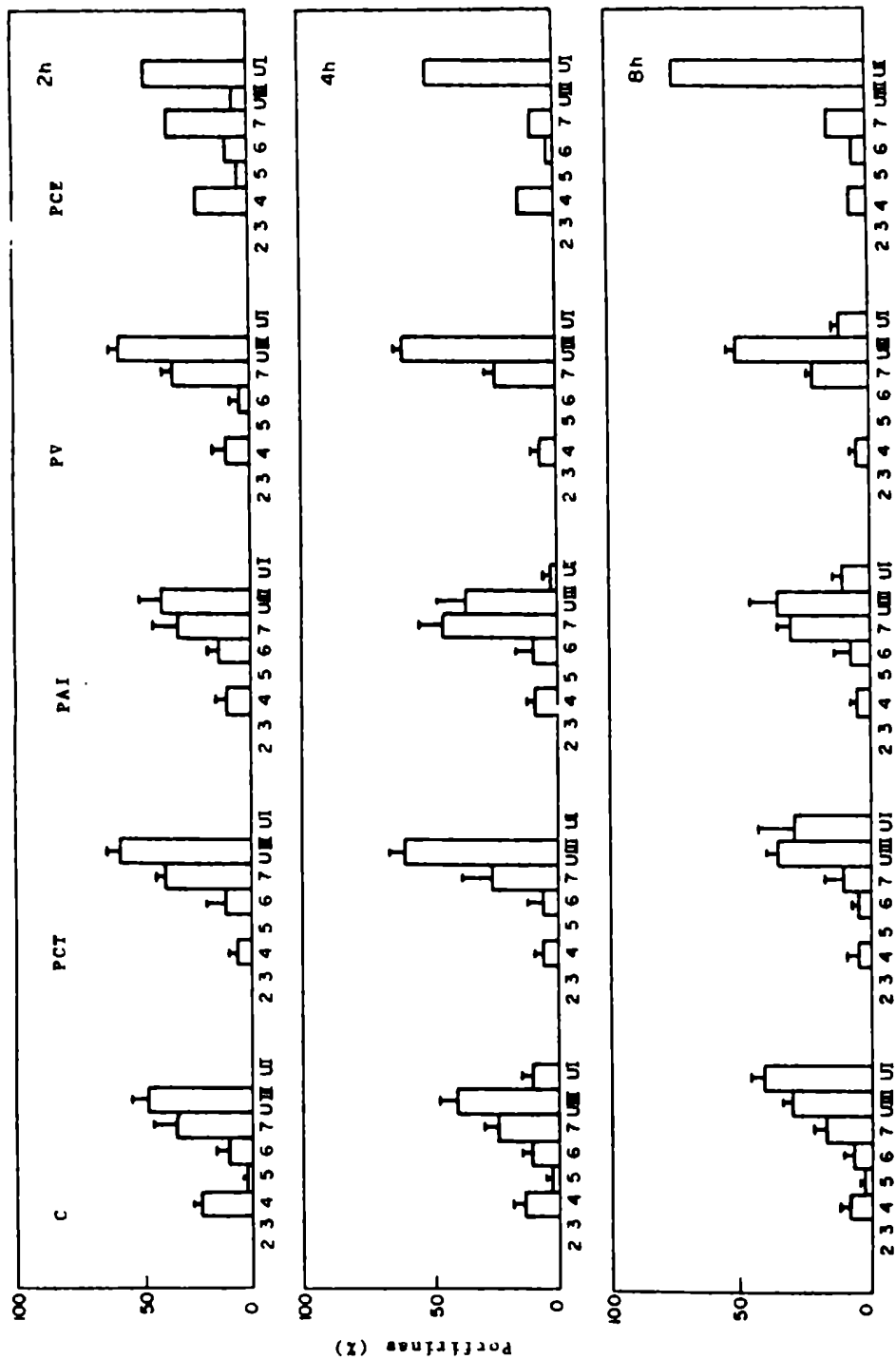


Figura II.4.: Distribución de porfirinas biosintetizadas correspondientes a hemolizados de controles sanos (c) y pacientes con distintos tipos de porfiria ilustrados en la Figura II.2.

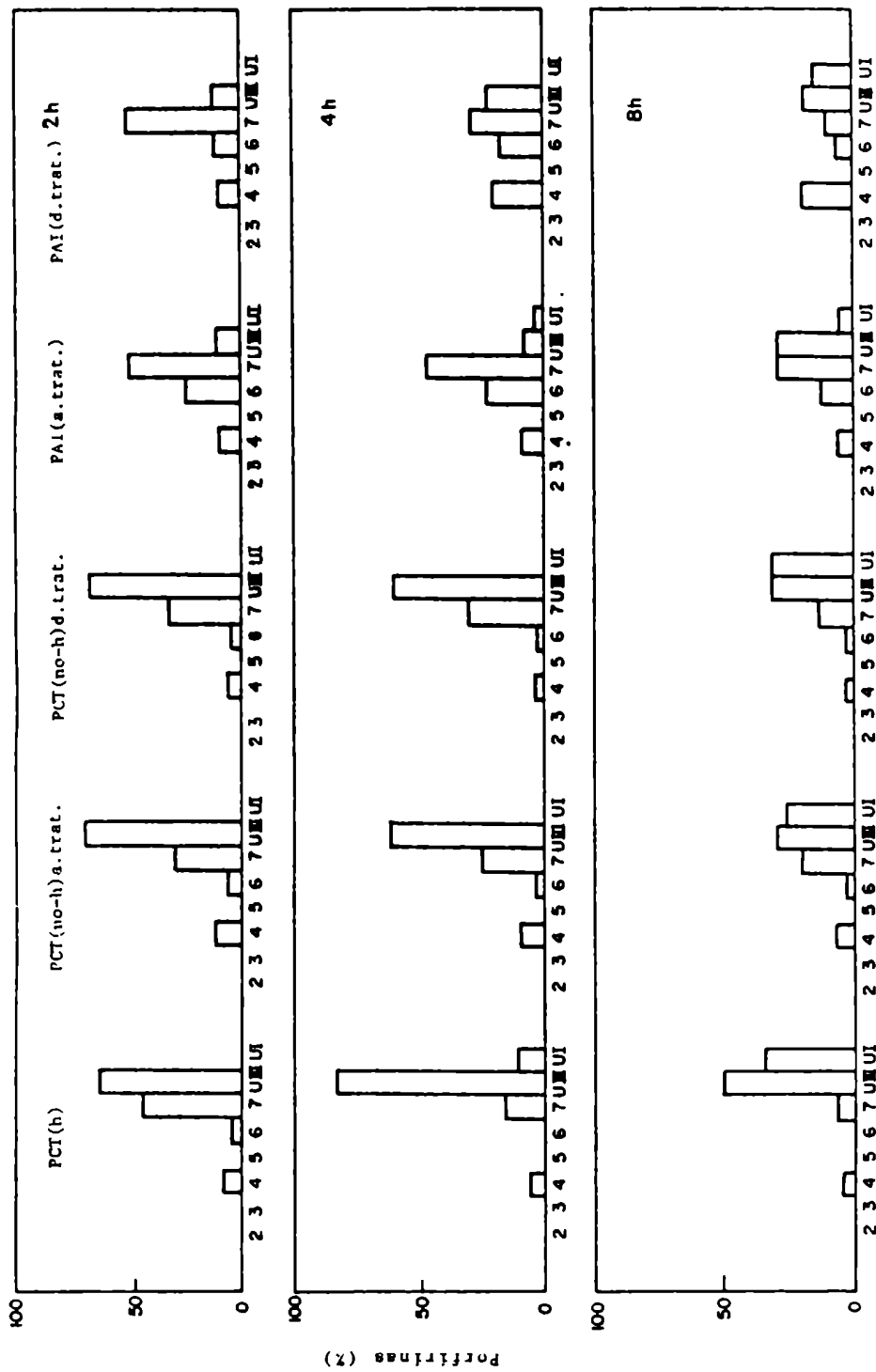


Figura II.5.: Distribución de porfirinas biosintetizadas con PCT hereditaria (h) y no-hereditaria (no-h) y PAI, antes y después del tratamiento.

En cuanto a lo concerniente al tratamiento, no se modifica el cuadro en PCT, sin embargo en un paciente con PAI, después de la terapia con ácido fólico (Capítulo III de Resultados) el patrón inicial, que fue de todos modos anormal antes de la terapia, mostró una tendencia a normalizarse, pero sólo después de 4 horas de incubación. Estos resultados fueron confirmados con otro paciente PAI sometido al mismo tratamiento. De todos modos no tenemos los datos experimentales suficientes para decir que el patrón de porfirinas biosintéticas pueda ser útil para seguir el curso de la terapia en PAI, y es necesario realizar más estudios para confirmar o no estos resultados.

Como se dijo anteriormente, en muchos casos no siempre es posible llegar a conclusiones válidas a partir de valores promedio, y en estos casos es necesario y aconsejable llevar a cabo los estudios individuales completos.

II.4. CONCLUSIONES Y RESUMEN

De los resultados surge que la biosíntesis de porfirinas totales varía en función del tiempo. Comparada con individuos normales, la biosíntesis de porfirinas es menor en PCE, intoxicación por plomo y PAI, pero es mayor en PCT.

En PCE la porfirina predominante fue Uroporfirina I. En la intoxicación por Pb, usando ALA como sustrato, la biosíntesis disminuyó sensiblemente. En PAI, a intervalos cortos, la inhibición fue aproximadamente del 50%.

En hemolizados de sujetos normales, PCE y PAI, las porfirinas formadas cambian en función del tiempo: el porcentaje de Uro aumenta a intervalos mayores, mientras que la Copro disminuye concomitantemente. Durante la incubación de hemolizados de PCT se observó un aumento significativo de las porfirinas octacarboxílicas.

Estos hallazgos indican que el estudio de la biosíntesis de porfirinas de eritrocitos humanos a partir de ALA y PBG puede proveer información útil para confirmar un diagnóstico y además reflejar un defecto enzimático característico para cada porfiria. Por medición directa de las actividades enzimáticas puede confirmarse la actividad de Isomerasa disminuida en PCE, una Porfobilinogenasa disminuida en PAI, una Urogen-De-

carboxilasa menor en PCT y una ALA-D inhibida en intoxicación por Pb. Además, se encontró en la mayoría de las porfirias un aumento en la actividad de ALA-S.

II.5. REFERENCIAS

- Alleman, M.; Wilson, J.; Van der Berg, J.; Edixhoven-Bosdijk, A. & Gastelquist, L. Clin. Chem. 28 (1982) 1144.
- Batlle, A.; Ferramola, A. & Grinstein, M. Biochem. J. 104 (1967) 244.
- Batlle, A.; Wider de Xifra, E.; Stella, A. ; Bustos, N. & With, T. Clin.Sci. 57 (1979 a) 63.
- Batlle, A.; Wider de Xifra, E.; Stella, A.; Bustos, N.; Vázquez, E. & Magnin, P. Revta.Argent.Derm. Sif. 60 (1979 b) 102.
- Doss, M. Enzyme 16 (1973) 343.
- Doss, M. en: "Porphyrins in Human Diseases" (1976) 1. (Ed. M.Doss). Karger-Basel.
- Hofstad, D.;Seip, M.& Eriksen, L. Acta Pediat.Scand. 26 (1973) 380.
- Levin, E. Science 161 (1968) 907.
- Llambías, E. & Batlle A. Biochim. Biophys.Acta 227 (1971) 180.
- Magnin, P.; Batlle, A.; Wider de Xifra, E. & Stella, A. Rev. Arg. Dermatol. 63 (1982) 177.
- Miyagi, K.; Petryka, Z.; Bossenmaier, I.; Cardinal, R. & Watson, C. Am. J. Hemat. 1 (1976) 3.
- Moore, M.; Thompson, G.; Goldberg, A.; Ippen, H.; Seubert, A. & Seubert, S. Int. J. Biochem. 9 (1978) 933.
- Piper, W. & Tephly, T. Life Sci. 14 (1974) 873.
- Sancovich, H.;Ferramola, A.; Batlle,A.; Kivilevich,A. & Grinstein, M. Acta Physiol. Latinoam. 26 (1976) 379.
- Schermuly, E. & Doss, M. Ann. Clin. Res. 8, suppl.17 (1976) 92.
- Stella, A.; Wider de Xifra, E.; Lenczner, M.; Magnin, P. & Batlle, A. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana XVI (1982) 389.
- Tephly, T. en: "Porphyrins in Human Disease" Report of Discussions (1979) 128. (Ed. M. Doss y P. Nawrocki) Falk-Freiburg.

- Viljoen, J.; Becker, D. & Kramer, S. Comp. Biochem. Physiol.
55 B (1976) 151.

C A P I T U L O I I I

UNA NUEVA Y SIMPLE TERAPIA DE LA
PORFIRIA AGUDA INTERMITENTE

III. UNA NUEVA Y SIMPLE TERAPIA DE LA PORFIRIA AGUDA INTERMITENTE

III.1. INTRODUCCION

Un aspecto importante para tener en cuenta en el tratamiento del ataque agudo es la eliminación de los factores desencadenantes del mismo, además de la aplicación de una terapia que ayude a salir de la crisis.

Existen tratamientos específicos para el ataque, que incluyen el uso de carbohidratos, hematina, corticoesteroides y beta-bloqueantes (Welland y col., 1964; Bonkowsky y col., 1971; Dhar y col., 1975; Bonkowsky y col., 1976; Peterson y col., 1976; Jusic y col., 1976; Lamon y col., 1978; Douer y col., 1978) y que se piensa que actúan directamente sobre el camino biosintético del hemo, en especial sobre el ALA-S, deteniendo así el desarrollo de la fase aguda de esta enfermedad.

En la PAI, la falla enzimática primaria es una deficiencia genética de la PBG-asa (o Deaminasa), por lo cual la actividad de esta enzima se encuentra reducida.

Trabajando en nuestro laboratorio con *Euglena gracilis*, demostramos la existencia de un factor termoestable, de bajo peso molecular, capaz de activar a la PBG-asa, controlando así su actividad; un estudio de sus propiedades indicaría que podría tratarse de un derivado del ácido fólico (Gernalnik y col., 1981). Por otro lado Tephly (1975) y Piper y Van Lier (1977) habían también observado que ciertos compuestos pteridínicos estimulaban la actividad de la PBG-asa en hígado de rata y sugirieron que tales derivados podrían actuar como coenzimas o reguladores de la conversión del PBG en uroporfirinógenos.

Estos hallazgos nos llevaron a aplicar una nueva terapia en el comienzo del ataque o bien una vez instalado el mismo en la PAI, consistente en la administración de ácido fólico.

Los resultados obtenidos demostraron que la terapia con ácido fólico producía una pronta recuperación tanto clínica como bioquímica de los pacientes.

III.2. RESULTADOS Y DISCUSION

Caso 1: La paciente, una mujer de 32 años, ingresó con fuertes dolores abdominales de tipo cólico de varios días de duración que se difundían hacia el dorso. También sufría de náuseas, vómitos, ansiedad e intensos dolores de cabeza, somnolencia y cansancio, debilidad generalizada y anorexia. Se determinaron precursores y porfirinas urinarias, y enzimas en GR. Los niveles de ALA y PBG en orina fueron de 20 mg/24 horas y 150 mg/24 horas respectivamente. Las porfirinas libres de 1.200 µg/24 horas. La actividad de PBG-asa de 11,8 unidades/ml de GR (normal = 22 ± 5) y Deaminasa 27,5 unidades/ml. GR (normal = 55 ± 10). Los valores controles se obtuvieron de muestras provenientes de 60 individuos sanos aunque enfatizamos la importancia de disponer de datos normales dentro de una misma familia para poder establecer con certeza un diagnóstico de PAI. Estos datos y la historia clínica confirmaron el diagnóstico de PAI.

Durante su primer ingreso al hospital se la había tratado con altas dosis de hidratos de carbono (Brodie y col., 1977) pero empleando solución de dextrosa al 10%, administrada por transfusión lenta vía parenteral, a razón de 360 g/día (90 g cada 6 horas). En una semana la recuperación clínica fue total, también hubo descenso de ALA, PBG y porfirinas en orina, pero no se detectaron cambios en la actividad enzimática que se mantuvo reducida al 50%. Después de dos semanas se suspendió esta terapia y se le dió de alta con la indicación de mantener una dieta hipercalórica, de 100 g de carbohidratos y 100 g de proteínas diarias; sin embargo al encontrarse clínicamente recuperada y sentirse bien la paciente abandonó esta dieta para evitar subir de peso.

Seis meses después comenzó a experimentar nuevamente los signos precedentes a un ataque agudo, quejándose de debilidad general, los típicos dolores abdominales y ligeras náuseas.

Debido a varias razones, entre ellas, su trabajo con dedicación exclusiva, si bien esta paciente había respondido muy bien a la terapia con carbohidratos, se resolvió ensayar por primera vez el tratamiento con ácido fólico, administrado por vía oral, a razón de 30 mg diarios, en tres dosis de 10 mg

cada 8 horas. Ya al día siguiente, se observó una clara recuperación clínica y la remisión fue completa dentro de los 3-5 días. También hubo una mejoría del cuadro bioquímico (Figura III.1.), pero tampoco observamos en esta oportunidad un cambio significativo en los valores de actividad enzimática. En consecuencia, la nueva terapia había producido resultados beneficiosos tanto clínica como bioquímicamente. Después de 10 días se suspendió la administración del fólico, y durante mucho tiempo no se observó recurrencia de la sintomatología.

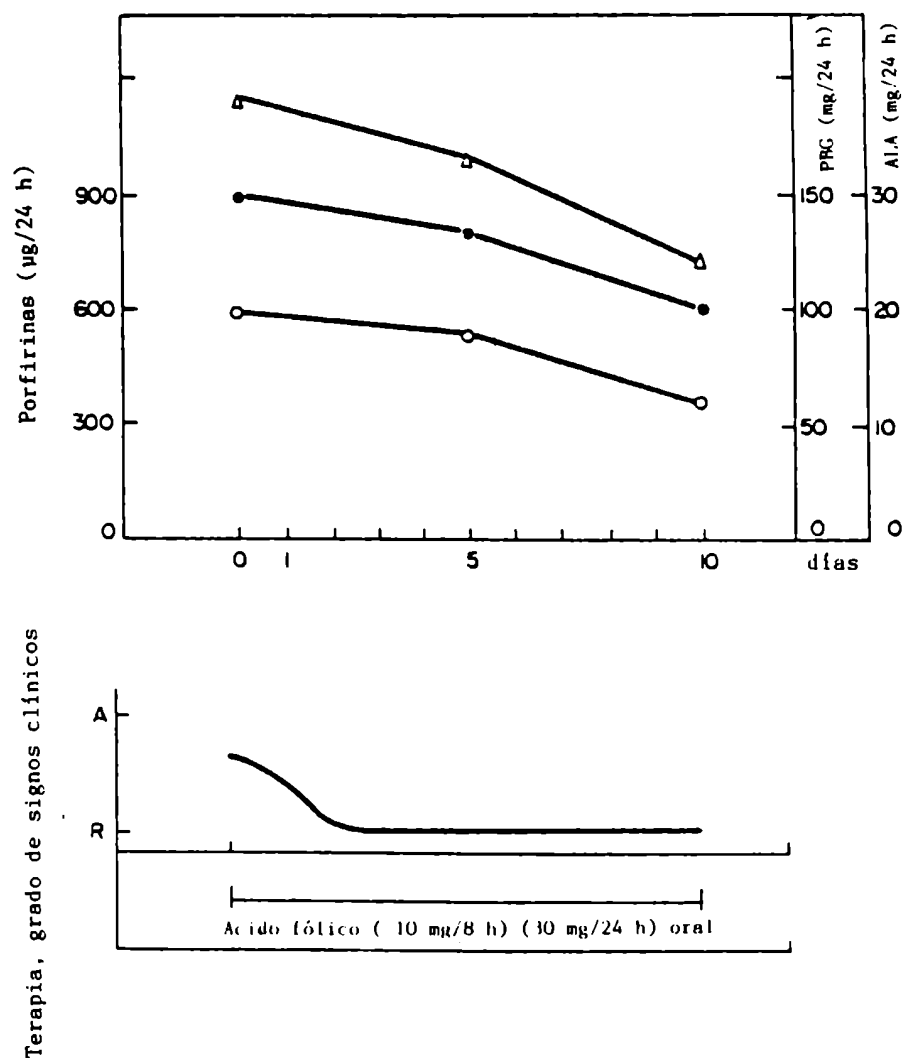


Figura III.1.: Efecto de la terapia con ácido fólico en unapaciente durante el inicio de un ataque agudo, sobre la excreción urinaria de ALA (○), PBG (●), y porfirinas totales (Δ).

Caso 2: El paciente, un hombre de 42 años proveniente de Córdoba ingresó al Hospital, luego de haber sido sometido a una intervención quirúrgica, durante la cual se le había aplicado un anestésico general, que precipitó el ataque agudo de PAI. Estudios familiares posteriores (Familia 5 - Capítulo IV de este trabajo) revelaron que su padre había sufrido crisis agudas de naturaleza similar, si bien ésta era la primera vez que se manifestaban en el paciente. El enfermo fue trasladado de urgencia hasta un hospital de la Capital para someterse a nuestra atención; en el momento de su admisión se encontraba muy enfermo, ansioso, tenía taquicardia de 100-110 latidos por minuto y una presión arterial de 160/100 mm Hg. No podía caminar y se quejaba de intenso dolor y debilidad en las piernas. El paciente estaba muy confuso, y hubo pérdida de conciencia, durante los primeros dos días en el hospital sufrió de alucinaciones y su estado mental correspondía al de una psicosis orgánica. Tenía muchas dificultades para hablar y era además totalmente no-cooperativo. En base a los síntomas e historia clínica, el antecedente de la precipitación de la crisis luego del uso de pentotal y finalmente las determinaciones de precursores y porfirinas en orina y actividades enzimáticas se diagnosticó como una PAI, e inmediatamente se lo sometió al tratamiento con carbohidratos, en la forma de una transfusión continua parenteral de dextrosa al 10% (15 g/h - 360 g/día). Sin embargo (Figura III.2.) aún después de cuatro días no se apreció ninguna recuperación del paciente, excepto una disminución de su presión arterial a 130/80 mm Hg, en consecuencia se decidió iniciar la terapia con ácido fólico, después de 6 días su condición clínica mejoró sensiblemente, lo cual fue acompañado de una disminución en la excreción urinaria de ALA, PBG y porfirinas. Como antes, luego de 10 días, se suspendió la administración del fólico y el paciente se dio de alta.

III.3. CONCLUSIONES Y RESUMEN

De estos resultados surge, que, la administración de ácido fólico parece tener efectos beneficiosos en el tratamiento de la PAI, produciendo una recuperación tanto clínica como bioquímica y podría emplearse entonces ya sea para el tratamiento y prevención o profilaxis de la enfermedad.

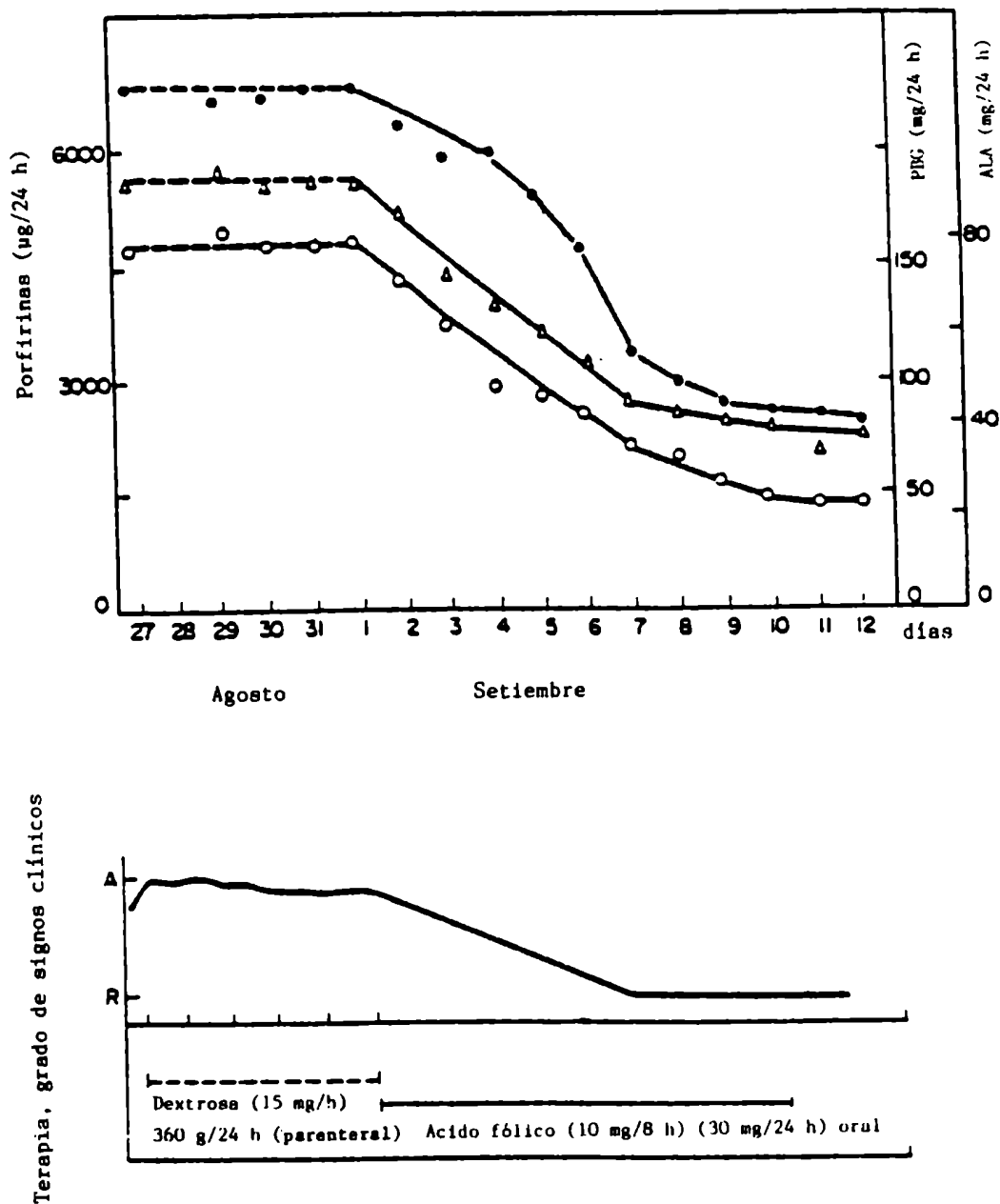


Figura III.2.: Efecto del tratamiento con altas dosis de hidratos de carbono, seguido de la administración oral de ácido fólico en un paciente en crisis aguda, sobre la excreción urinaria de ALA (○), PBG (●) y porfirinas totales (Δ).

Tiene la gran ventaja de que el agente puede administrarse por vía oral y su acción se observa rápidamente.

Es una terapia simple y de corto término, con muy pocas probabilidades de producir efectos colaterales adversos, como suele ocurrir con la mayoría de los otros tratamientos.

Es de hacer notar que desde entonces hasta el presente,

esta nueva terapia' se ha aplicado, ya sea sola o en asociación con el uso de carbohidratos para el tratamiento de un gran número de pacientes con PAI, durante crisis agudas, con resultados tan satisfactorios como los observados en estos dos primeros pacientes.

III.4. REFERENCIAS.

- Bonkowsky, H.; Tschudy, D.; Collins, A.; Bossenmaier, I.; Cardinal, R. & Watson, C. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 68 (1971) 2725.
- Bonkowsky, H.; Magnussen, C.; Collins, A.; Doherty, J.; Hess, R. & Tschudy, D. Metabolism 25 (1976) 405.
- Brodie, M.; Moore, M.; Thompson, G. & Goldberg, A. Clin. Sci. Mol. Med. 53 (1977) 365.
- Dhar, G.; Bossenmaier, I.; Petryka, Z.; Cardinal, I. & Watson, C. Ann. Intern. Med. 83 (1975) 20.
- Douer, D.; Weinberger, A.; Pinkhas, J. & Atsmon, A. J. Am. Med. Ass. 240 (1978) 766.
- Geralnik, A. J. de; Rossetti, M. & Batlle, A. Int. J. Biochem. 13 (1981) 343.
- Jusic, A.; Sostarko, M. & Majić, M. Eur. Neurol. 14 (1976) 294.
- Lamon, J.; Bennett, M.; Frykholm, B. & Tschudy, D. Lancet 2 (1978) 492.
- Peterson, A.; Bossenmaier, I.; Cardinal, R. & Watson, C. J. Am. Med. Ass. 235 (1976) 520.
- Piper, W. & Van Lier, R. Mol. Pharmacol. 13 (1977) 1126.
- Tephly, T. en: "Porphyrin in Human Diseases - Report of the Discussions" (1975) 128. (Eds. M. Doss y P. Nawrocki).
- Welland, F.; Hellman, E.; Collins, A.; Hunter, G. & Tschudy, D. Metabolism 13 (1964) 232.

C A P I T U L O I V

LA HERENCIA EN LA PORFIRIA AGUDA INTERMITENTE
Y ALGUNAS CARACTERISTICAS DE INTERES.
UN ESTUDIO DE 14 FAMILIAS

IV. LA HERENCIA EN LA PORFIRIA AGUDA INTERMITENTE Y ALGUNAS CARACTERISTICAS DE INTERES. UN ESTUDIO DE 14 FAMILIAS

IV.1. INTRODUCCION

Ya se ha señalado que la PAI se transmite según un carácter hereditario autosómico dominante, que puede existir en forma latente de un modo indefinido y que son pocos los casos descriptos en niños.

El diagnóstico de una PAI latente no siempre es posible mediante el análisis de precursores en orina como bien lo demostraron Ludwig y Epstein (1961) y With (1963). A pesar de ello, Waldenström y Haeger-Arönsen (1967), durante mucho tiempo insistieron en que si no era posible demostrar un exceso de PBG en la orina, en ausencia de signos clínicos debía descartarse la posibilidad de que se tratara de un portador latente de PAI. Y este punto de vista subsistió hasta que en 1972, Strand y col. (1972), demostraron que en carriers de PAI, incluyendo niños, aún cuando la excreción urinaria de ALA y PBG era normal, la actividad de la Deaminasa eritrocitaria se encontraba significativamente reducida.

Vemos entonces que el análisis urinario como elemento para la detección de casos latentes es de valor muy limitado, pues en un tercio de los portadores asintomáticos y en niños la excreción de ALA y PBG no está aumentada, de manera que el método más sensible y seguro para el diagnóstico es la medición de la actividad de la PBG-asa o Deaminasa en eritrocitos, si bien debemos señalar que el rango de variabilidad para los valores normales es bastante amplio y puede existir superposición entre los niveles de porfíricos y controles (Sassa y col., 1974; Whitfield y col., 1975; Batlle y col., 1978; Astrup, 1978; Doss y Tiepermann, 1978; With y Pedersen, 1981). En consecuencia, es siempre necesario disponer de los valores de actividad para ambos padres, así como del mayor número de familiares consanguíneos posibles, con el objeto de obtener los niveles normales propios de la familia en estudio y así poder comparar la actividad enzimática del sujeto que se supone puede ser un PAI latente con las actividades de los demás familiares.

La combinación de los datos de los análisis enzimáticos

y urinarios permitirá entonces clasificar a todos los miembros de la familia del paciente (Astrup, 1978; Formgren y Wetterberg, 1978; Lamon y col., 1979; Brocklehurst y col., 1980; Kreimer y Birnbaum y col., 1980).

Se ha llevado a cabo un estudio clínico y bioquímico completo de 14 familias con PAI. Se presentarán los datos correspondientes a 85 individuos de los cuales se ha determinado que 18 de ellos son casos sintomáticos, 33 latentes y sólo 34 normales.

Un análisis de la penetrancia del gen está de acuerdo con la hipótesis de una transmisión hereditaria dominante mendeliana. En algunos casos se señalarán algunas características interesantes u otras poco comunes en ciertos pacientes o familias.

IV.2. MATERIALES

Se estudiaron 18 casos de PAI clínicamente manifiesta pertenecientes a 14 familias, de las cuales se investigaron además 37 familiares de sexo femenino y 30 masculinos (Cuadro IV.1.).

Se dispone de las historias clínicas completas de todos los pacientes y varios de los familiares; además de los controles usuales, por lo general se efectuaron los siguientes estudios de rutina: hemograma, eritrosedimentación, orina completa, líquido cefalorraquídeo. En varios pacientes sintomáticos se realizaron tomografía computada de cerebro, electroencefalograma y electromiograma.

IV.3. RESULTADOS Y DISCUSION

En las Tablas IV.1. a IV.14. y en las correspondientes Figuras IV.1. a IV.14. se ilustran los datos obtenidos para las 14 familias estudiadas.

En el caso de la Familia 1 (Tabla IV.1. - Figura IV.1.) la paciente, madre de dos hijos sanos había sufrido ya tres abortos desde 1979, y 4 crisis agudas coincidentes con los primeros meses de embarazos. La última crisis era la quinta y es-

taba embarazada de dos meses y medio. Durante las internaciones fue medicada repetidamente con calmantes varios y valium. La paciente padece en esos momentos de los típicos dolores abdominales que comienzan en la zona lumbar y se irradian al resto del abdomen, con carácter errático en cuanto a la localización; también hay taquicardia, palpitaciones y orinas rojas. En la segunda crisis se agregaron alteraciones conductuales (crisis de llanto e hipomaníacas) luego manifestaciones psiquiátricas y en el último ataque se sumaron fuertes dolores musculares en los cuatro miembros e insensibilidad en pantorri^llas. Son comunes asimismo las cefaleas, trastornos de la percepción, debilidad muscular general, mareos y hasta desmayos con pérdida del conocimiento.

Cuadro IV.1.: Familias porfíricas estudiadas

FAMILIAS	SEXO	NUMERO DE CASOS		
		Totales	Familiares	PAI Manifiesta
14	F	52	37	15
	M	33	30	3

En abril de 1982 se inició el tratamiento con ácido fólico observándose una rápida recuperación clínica y bioquímica; pero cuando se suspende la terapia la enferma refiere que comienza a sentir dolores de cabeza y mareos, si bien el resto del cuadro se mantiene bastante normal.

De los estudios en un total de 7 miembros de esta familia (Tabla IV.1.) solamente se encontraron niveles de ALA, PBG y porfirinas urinarias aumentadas para la paciente (Figura IV.1 A), y las enzimas PBG-asa y Deaminasa disminuídas en la paciente, su padre y un hermano de 15 años, ambos sin ninguna sintomatología. Correspondientemente, la biosíntesis de porfirinas a partir de PBG, que es otra medida de la deficiencia en

zimática a nivel de conversión del pirrol en uroporfirinóge- nos (Parera y col, 1980), también estaba reducida en la pacien- te y su hermano menor. Como es característico el patrón de por- firinas urinario de la paciente, reveló la presencia de canti- dades significativas de uroporfirinas, producto de su sínte- sis química a partir de PBG (Figura IV.1.B).

Tabla IV.1.: Parámetros bioquímicos

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	O R I N A			HECES	S A N G R E				
					ALA	PBG	Porf.	Porf.	ALA-D	PBG-asa	Deam.	Bios. Porf.	
												2 h	4 h
1	Ia	M	56	no	1,20	2,00	15,0	128,0	0,986	14,30	31,30	ND	ND
	Ib	F	45	no	2,40	2,30	14,8	148,4	0,885	25,40	57,90	15,90	25,80
	IIa	M	15	no	0,50	0,91	135,5	713,7	0,965	10,52	22,74	3,14	6,60
	IIb	M	22	no	0,80	0,43	19,1	86,8	0,865	20,81	43,72	ND	ND
	IIe (pr)	F	23	si	10,23	108,25	1.635,4	385,6	0,750	15,13	35,22	5,20	11,80
	IIIa	F	3	no	2,15	2,31	50,6	120,7	0,996	29,61	59,15	ND	ND
	IIIb	F	5	no	2,01	0,93	60,2	110,8	0,665	32,05	64,41	13,86	29,98

Es interesante también destacar que los niveles norma- les de las enzimas PBG-asa y Deaminasa en esta familia (Figura IV.1.C) están ligeramente por debajo de las medias obtenidas para un número elevado de individuos sanos, reafirmandose una vez más la hipótesis de que cada familia posee su propio nivel límite de Deaminasa entre portadores y no portadores y la im- portancia de determinarlo para poder discriminar entre un caso latente o no.

En base a estos resultados se pudo establecer entonces (Figura IV.1.D) que ha sido el padre de la paciente el transmi- sor del desorden, y que uno de sus hermanos es portador laten- te de la PAI, mientras que su madre, una hermana y sus dos hi- jos, como dijimos, son sanos.

Para la Familia 2 (Tabla IV.2. - Figura IV.2.) se han podido estudiar solamente 4 familiares de la paciente y vemos que la enferma ha heredado el desorden de su madre, y lo ha transmitido a sus dos hijos. En esta familia los límites norma- les son más altos que en la anterior y están dentro de los va- lores medios de referencia.

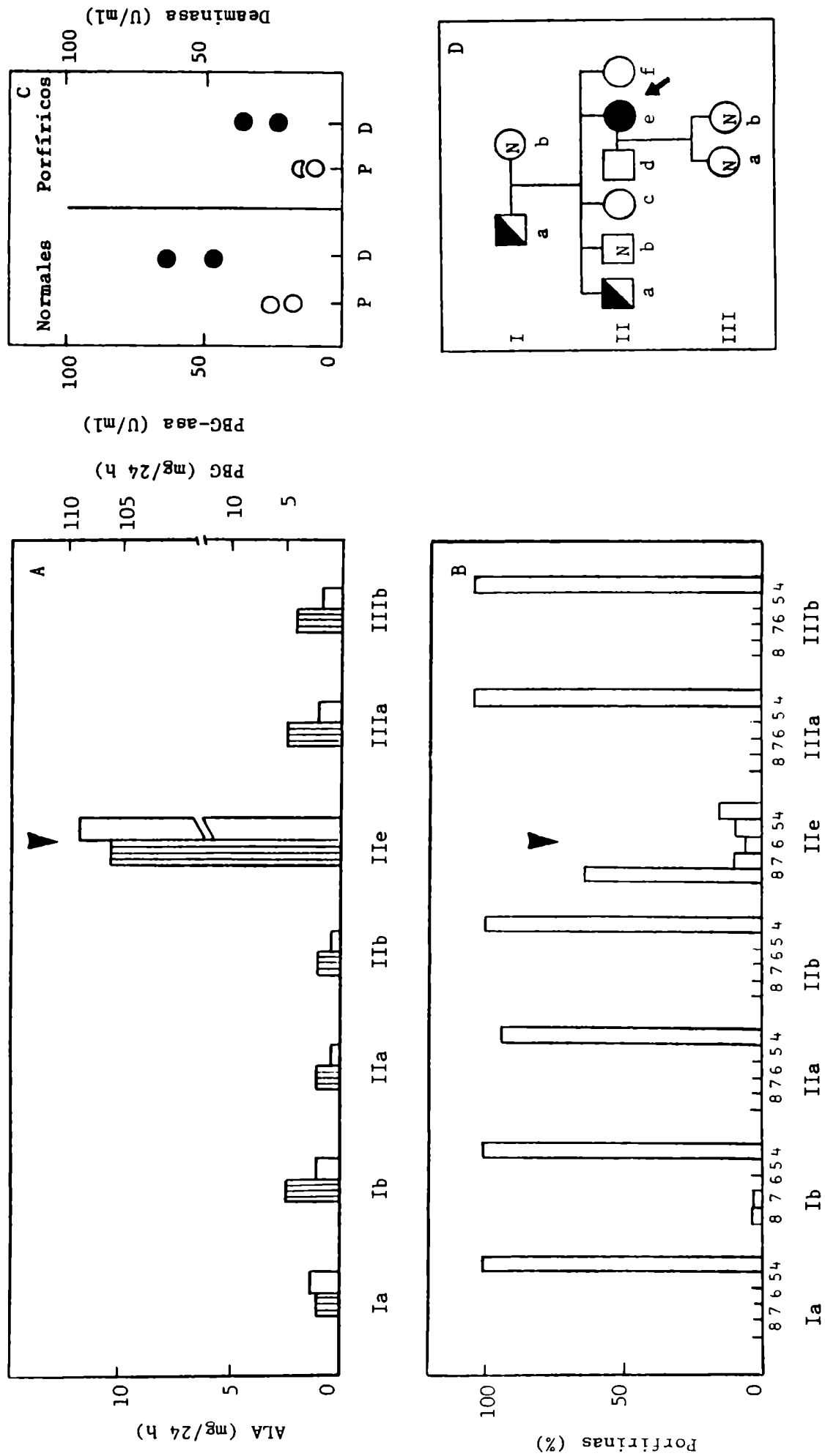











Figura IV.1.1.: Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 1.

Simbolismos y leyendas correspondientes a las Tablas IV.1. a IV.14. y Figuras IV.1. a IV.15.

Masculino						
Femenino						
	No estudiado	Normal	Fallecido	Sintomático	Latente	Propósito (pr.)

Tablas: Valores Normales y Unidades

ALA = 2-4 mg/24 h

PBG = 1-2 mg/24 h

Porfirinas totales libres en orina = 20-250 µg/24 h

Porfirinas esterificadas en heces = 30-130 µg/g seco

Enzimas

	<u>Femenino</u>	<u>Masculino</u>
ALA-D: nmol PBG/h/ml GR	0,794 ± 0,247	0,686 ± 0,232
PBG-asa: nmol porf/h/ml GR	38,74 ± 6,05	34,63 ± 8,22
Deaminasa: nmol porf/h/ml GR	81,51 ± 11,96	73,13 ± 13,62
Biosíntesis de porfirinas: nmol porf/2 h/ml GR	18,14 ± 3,31	14,75 ± 3,76
Biosíntesis de porfirinas: nmol porf/4 h/ml GR	42,50 ± 8,18	37,02 ± 9,82

ND = no determinado

Figuras: A: Concentración urinaria de ALA (|||||) y PBG (□).

B: Patrón de las porfirinas urinarias esterificadas, por cromatografía líquida a alta presión, según el número de grupos carboxílicos, 8 = (8-COOH) uroporfirinas; 7, 6, 5 = porfirinas de 7, 6 y 5 COOH; 4 = (4-COOH) coproporfirinas.

C: Valores de actividades enzimáticas para normales y pacientes con PAI sintomática o latente de PBG-asa (○, P) y Deaminasa (●, D).

D: Pedigrée de la familia estudiada elaborado en base a los datos clínico-bioquímicos de la Tabla correspondiente.

Tabla IV.2.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	O R I N A			HECES	S A N G R E					
					ALA	PBG	Porf.		Porf.	ALA-D	PBG-asa	Deam.	Bios. Porf.	
													2 h	4 h
2	Ib	F	64	no	3,50	3,83	56,9	136,3	0,813	20,51	47,71	21,60	46,41	
	IIId	F	39	no	2,35	3,00	30,0	216,4	0,777	28,52	74,90	15,14	28,19	
	IIIf (pr)	F	42	si	13,62	236,31	2 931,3	206,2	0,856	19,40	51,21	10,50	19,45	
	IIIfa	M	18	no	3,80	2,85	70,1	183,2	0,776	15,62	35,75	12,27	25,94	
	IIIfb	F	17	no	2,80	2,73	60,1	165,3	0,835	14,50	31,93	13,85	27,72	

Es interesante el caso de la Familia 3 (Tabla IV.3.- Figura IV.3.) por varias razones, una de ellas es que la paciente fue aquella a la cual nos referimos como caso 1, en el estudio relacionado al desarrollo de una nueva terapia (Capítulo III), y es entonces la primera enferma en la cual se aplicó con éxito el tratamiento con ácido fólico; de manera que ya hemos analizado con detalle la evolución de su sintomatología clínica y bioquímica. Por otro lado se han podido estudiar 9 miembros de esta familia, en tres generaciones y sólo uno de ellos, la madre de la paciente, resultó ser normal aunque aún en ella los niveles normales de las enzimas estuvieron dentro de los límites inferiores al valor medio de referencia; de manera que evidentemente la actividad enzimática de todos los demás portadores latentes de PAI, estaba significativamente reducida, aunque sin síntomas clínicos ni excreción aumentada de precursores en orina. Otro de los aspectos interesantes es el hecho de haber detectado PAI latente en dos niños de 9 años, un varón y una mujer, en tanto que también los otros dos niños de 12 años son portadores de la falla, y no sería difícil que la pequeña de 3 años también lo fuera, pero en varias ocasiones se intentó infructuosamente obtener muestras de sangre de ella, de allí que no se hayan podido realizar sus estudios. Es notable la penetrancia del gen en esta familia como se visualiza rápidamente de su pedigrée (Figura IV.3.D); sin embargo el conocimiento de su condición y una correcta profilaxis revelan que excepto la paciente todos los portadores siguen siendo asintomáticos.

presentado asimismo todos los demás signos, de dolores generalizados, taquicardia, hipertensión, hiponatremia. En marzo de 1980 inició el tratamiento con ácido fólico, experimentando franca mejoría y se le ha indicado una terapia de mantenimiento con dieta rica en hidratos de carbono.

Tabla IV.3.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	ORINA			INFECS	SANGRE				
					ALA	PBG	Porf.	Porf.	ALA-D	PBG-asa	Deam.	Bios.Porf.	
												2 h	4 h
3	Ia	M	61	no	1,22	0,78	83,5	ND	ND	17,79	26,67	ND	ND
	Ib	F	60	no	1,47	0,78	76,4	ND	ND	30,28	48,49	ND	ND
	IIb (pr)	F	32	si	47,70	318,70	2.225,6	116,3	ND	19,56	31,98	ND	ND
	IIId	F	35	no	1,28	1,80	81,4	123,6	ND	25,49	41,46	ND	ND
	IIIf	F	37	no	2,09	3,60	79,3	89,2	ND	9,94	18,01	ND	ND
	IIIa	M	9	no	0,99	1,21	51,2	78,5	ND	14,99	31,27	ND	ND
	IIIc	F	12	no	0,86	1,14	83,5	103,8	ND	12,49	26,33	ND	ND
	IIId	M	12	no	0,80	2,70	95,3	83,8	ND	12,58	22,43	ND	ND
	IIIe	F	9	no	1,30	2,07	68,3	121,4	ND	9,79	18,36	ND	ND

De esta familia no se dispuso de suficiente muestra de sangre como para poder completar los estudios.

Los límites normales de las enzimas en esta familia son aparentemente altos (Figura IV.4.C). Como podemos ver, la madre es portadora latente, aunque ella refiere sufrir algún tipo de molestias abdominales. Una sobrina de la paciente, hija de la hermana porfírica también tiene una PAI latente (Figura IV.4.D).

El paciente de la Familia 5 (Tabla IV.5. - Figura IV.5.) es precisamente el caso 2 del estudio de aplicación de la nueva terapia con ácido fólico (Capítulo III). Es una familia cordobesa y el paciente se traslada periódicamente a Buenos Aires para su control. Ya comentamos cómo se le desencadenó su ataque de PAI. El paciente ha informado que su padre presentaba una sintomatología similar a la suya. También en esta familia encontramos otro miembro sintomático vivo, en una hermana soltera del paciente (Figura IV.5.D) en tanto que otra hermana y un sobrino

son portadores latentes de la enfermedad. El paciente también refiere que el padre de ese sobrino falleció a la edad de 32 años, luego de una crisis nerviosa y de haber padecido problemas de movilidad en manos y piernas, y fuertes dolores dorsales, además a los 30 años había estado internado por deshidratación y parálisis muscular en todos los miembros. Los dos hijos del paciente y otras dos hermanas son normales.

La Familia 6 (Tabla IV.6. - Figura IV.6.) es otra familia interesante en la cual se han podido estudiar todos los miembros de dos generaciones y en forma muy exhaustiva, de manera que analizaremos con algo más de detenimiento este caso.

La paciente había ingresado en el Servicio de Urgencia, con un cuadro interpretado como cólico renal, que no cedió con analgésicos; luego pasó a otra sala y 10 días después comenzó a manifestar ansiedad, intranquilidad, intenso dolor abdominal irradiado a zona lumbar, constipación, hipertensión arterial (150-100 mm Hg), taquicardia y orinas oscuras. Siguió convulsiones tónico-clónicas generalizadas, midriasis bilateral, mirada desviada hacia la derecha, incontinencia de esfínteres, arreflexia patelar bilateral e hiporreflexia aquileana.

Es importante destacar que a la sintomatología abdominal se sumó un cuadro neurológico importante, con crisis convulsivas sub-irritantes, de difícil tratamiento y con pérdida de la conciencia.

Los resultados de los estudios clínicos revelaron que el registro electroencefalográfico obtenido durante los intervalos de las crisis convulsivas mostraba una marcada lentificación generalizada de la actividad bioeléctrica cortical, por la presencia de ritmos delta hipervoltados y franca predominancia de la patología en el hemisferio izquierdo. El trazado reveló entonces una importante alteración de la electrogénesis, aunque inespecífica.

El electroencefalograma efectuado cuando la crisis cedió, luego del tratamiento respondió a un trazado normal, con frecuencias dominantes de 8 a 9 ciclos por segundo en las áreas posteriores, de mediana amplitud, sin asimetrías interhemisféricas ni ritmos paroxísticos, es decir sin signos de lesión.

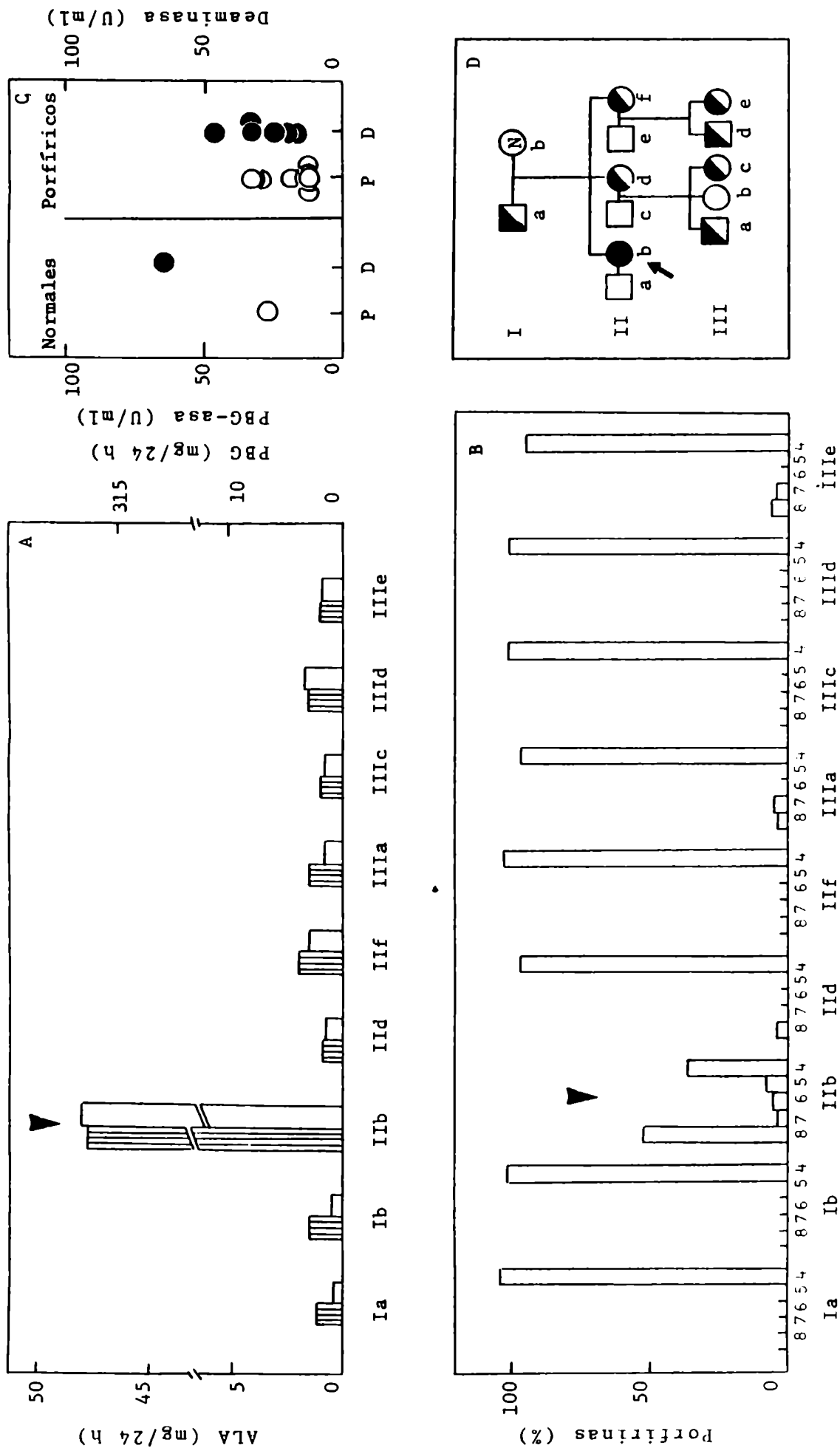


Figura IV.3.: Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 3.

Tabla IV.4.: Parámetros bioquímicos

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	ORINA			HECPS	SANGRE				
					ALA	PBG	Porf.	Porf.	ALA-D	PBG-asa	Deam.	Bios.Porf.	
												2 h	4 h
4	Ia	M	66	no	2,38	3,30	82,6	ND	0,821	42,09	95,80	ND	ND
	Ib	F	63	no	1,92	3,00	32,6	ND	0,790	21,68	48,17	ND	ND
	IIb	F	37	si	9,44	63,77	650,8	212,7	0,710	19,04	36,11	8,8	20,6
	IIe	M	31	no	0,96	2,12	22,4	ND	0,732	38,01	83,09	ND	ND
	IIc (pr)	F	44	si	13,09	84,36	1.730,0	270,9	0,424	19,04	53,70	8,0	18,0
	IIia	F	19	no	2,32	3,90	35,2	151,6	0,481	20,35	53,37	10,0	20,0

La tomografía computada de cerebro dió normal. A pesar de que a las 72 horas de haberse iniciado el tratamiento, la crisis aguda cedió, por cuanto aún persistían la arreflexia patelar bilateral y la hiporreflexia aquileana, se pidió un electromiograma, en el cual se reveló una neuropatía mielínica generalizada a predominio motor.

En cuanto a los registros de los electroencefalogramas obtenidos con esta paciente, fue llamativa la total y rápida normalización de las ondas, superada la crisis aguda luego del tratamiento (Figura IV.6. E y F).

Hasta el momento son relativamente pocos los trabajos en los cuales se presta atención al estudio encefalográfico de los pacientes con porfirias agudas, de estos, un análisis de los resultados de evolución de los EEG en casos de PAI, había evidenciado que durante la fase aguda, los trazados mostraban en todos los casos una lentificación, algunas veces con un trazado ligeramente asimétrico, también con mayor patología en el hemisferio izquierdo, acompañado de descargas bilaterales epilépticas (Magnussen y col., 1975; Beauvais y col., 1976).

Si bien con menor información, algunas de las anomalías observadas en esta paciente y en los dos trabajos mencionados anteriormente, fueron descriptas también por otros autores (Rey-Bellet, 1962; Case records of the MGH, 1975; Jusic y col., 1976).

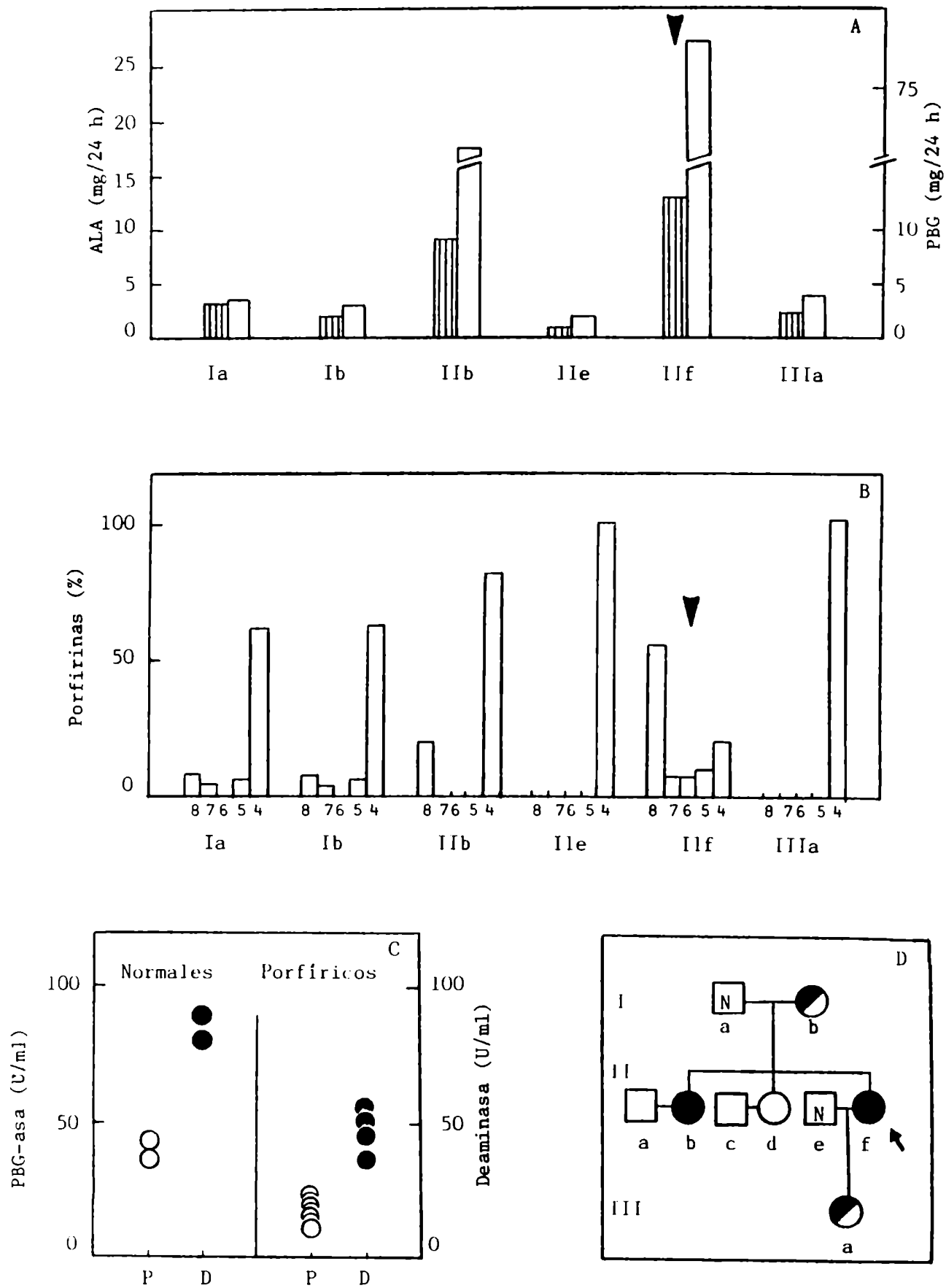


Figura IV.4.: *Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 4.*

Tabla IV.5.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	O R I N A			HECES	S A N G R E				
					ALA	PBG	Porf.	Porf.	ALA-D	PBG-asa	Dean.	Bios.Porf.	
												2 h	4 h
S	IIC (pr)	M	42	si	46,70	175,50	3.730,6	130,3	0,446	28,24	47,19	7,25	12,47
	IIId	F	40	no	1,50	2,00	25,1	ND	0,617	42,76	80,07	ND	ND
	IIe	F	30	no	4,31	3,98	82,7	80,1	0,675	32,84	53,89	7,07	18,51
	IIg	F	30	no	1,87	0,83	22,8	ND	0,851	36,11	63,42	8,06	19,53
	IIh	F	38	no	2,00	4,50	54,8	ND	0,585	28,76	43,38	ND	ND
	IIi	F	30	no	1,18	0,52	23,3	98,3	0,418	44,72	71,54	12,55	29,92
	IIla	M	20	no	2,61	1,96	132,7	120,1	0,658	30,07	50,31	5,84	18,39
	IIlb	M	17	no	1,81	3,10	53,3	137,3	0,586	29,32	61,46	11,43	24,11
	IIlc	F	22	no	1,77	1,52	40,3	92,7	0,997	44,75	75,75	13,56	28,72

No se dispone de datos bioquímicos del padre del paciente fallecido, pero las referencias clínicas lo señalan como un típico caso de Porfiria Aguda.

Es interesante señalar que los resultados previos de electromiografías en pacientes con porfiria aguda, si bien compatibles con una neuropatía, no todos responden a un patrón uniforme.

En algunos casos, se ha observado una severa, diseminada y activa denervación en todos los músculos, brazos y piernas, principalmente con fibrilaciones y ondas agudas positivas, teniendo en cuenta además que las velocidades de conducción en contradas en las fibras motoras y sensoriales son normales, es tos datos estarían indicando que la neuropatía porfírica sería el resultado de un daño primariamente axonal que involucraría las fibras motoras (Schirger y col., 1962; Maytham y Eales, 1971; Case records of the MGH, 1975; Mustajoki y Seppäläinen, 1975; Magnussen y col., 1975; Jusic y col., 1976; Albers y col., 1978; Sergay, 1979). En apoyo a este tipo de mecanismo Wochnik=Dyjas y col. (1978) han demostrado que las velocidades de conducción nerviosa motora disminuídas en pacientes en fase aguda, asociadas con evidencia clínica de polineuropatía, recuperaban sus niveles normales superada la crisis, sugiriendo que las anomalías neurológicas provocadas por la porfiria, al principio son estrictamente funcionales, pero que ataques agudos prolongados o repetidos conducirían a un daño permanente bajo la forma de una degeneración axonal.

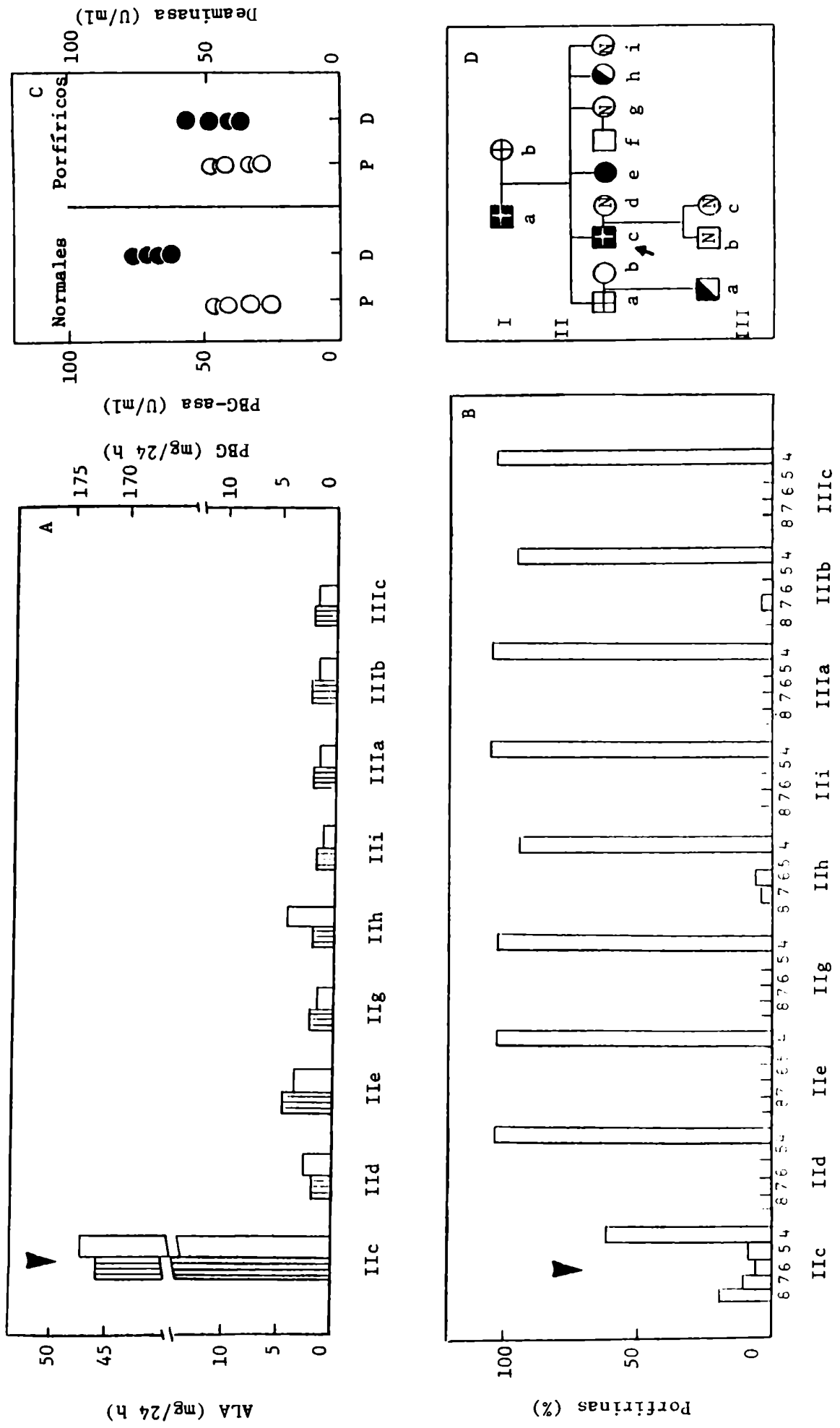


Figura IV.5.: Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 5.

Tabla IV.6.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	O R I N A			HECFS	S A N G R E				
					ALA	PBG	lorf.	Porf.	ALA-D	PBG-asa	Deam.	Bios.porf.	
												2 h	4 h
6	Ia	M	42	no	1,02	1,13	18,3	187,2	ND	33,12	72,40	ND	ND
	Ib	F	42	no	1,37	1,80	13,1	226,2	ND	14,10	31,82	5,61	11,05
	IIa	M	23	no	1,81	1,90	17,7	152,9	0,786	12,30	30,20	ND	ND
	IIb	F	12	no	1,85	4,49	128,9	36,1	ND	18,10	31,92	4,35	9,03
	IIc (pr)	F	19	si	25,10	91,11	7.005,4	263,3	0,669	13,70	34,50	ND	ND
	IId	F	22	no	1,02	1,20	25,3	189,5	ND	28,40	51,00	ND	ND

Otros trabajos sugieren que los cambios neuropatológicos en la PAI, muestran una desmielinización segmentada e irregular, con reducción en el número de capas de mielina, proponiendo que las lesiones mielínicas involucran primariamente partes distales de las neuronas, expresándose más profundamente en las sensoriales, en tanto que las lesiones de las axonas se detectan después. En general, también aquí el proceso sería parcial o totalmente reversible (Gibson y Goldberg, 1956; Drury, 1956; Peters y col., 1974; Vacek y col., 1982).

Sin embargo, de estudios con microscopía electrónica en biopsia del nervio sural de un paciente con neuropatía porfírica. Anzil y Dozić (1978) han demostrado que, en los nervios periféricos, los cambios en axones y mielina generalmente ocurren en forma paralela, y proceden en el mismo segmento de la fibra nerviosa, ambas lesiones pueden afectarla ya sea concomitante o paralelamente. Es posible también que las lesiones primarias axonales y mielínicas puedan existir sobre el mismo nervio, aunque en diferentes fibras o secciones de la misma fibra, conduciendo a lesiones secundarias de degeneración axonal, seguidas de interrupción de la fibra nerviosa, y de desmielinización segmentada, consecuente a las anomalías axonales. Cuando sea posible reconocer y determinar los componentes individuales de este proceso podrían llegar a explicarse las diferentes y contradictorias observaciones acerca de la neuropatía porfírica que se comentaron anteriormente.

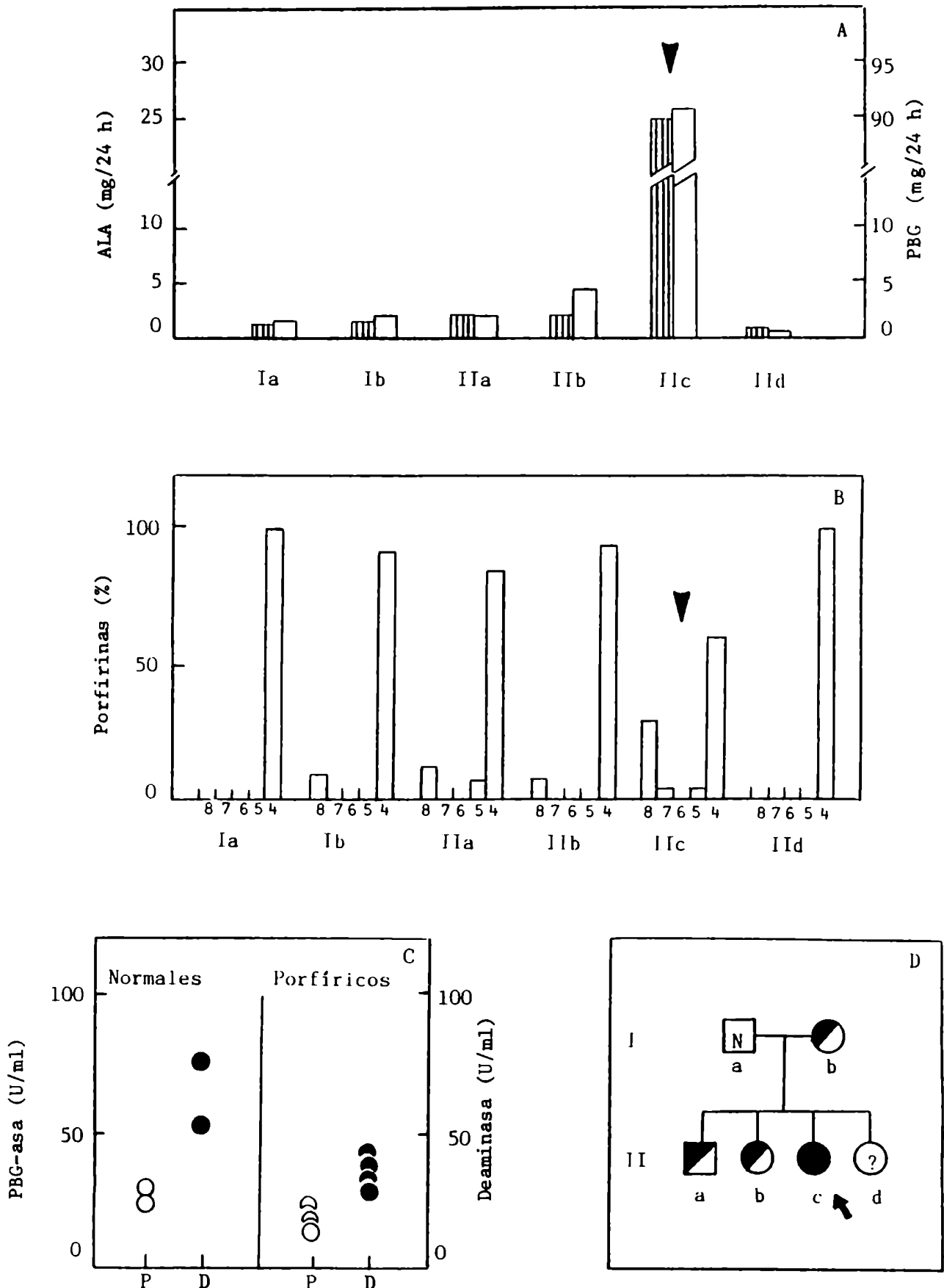


Figura IV.6.: Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 6.

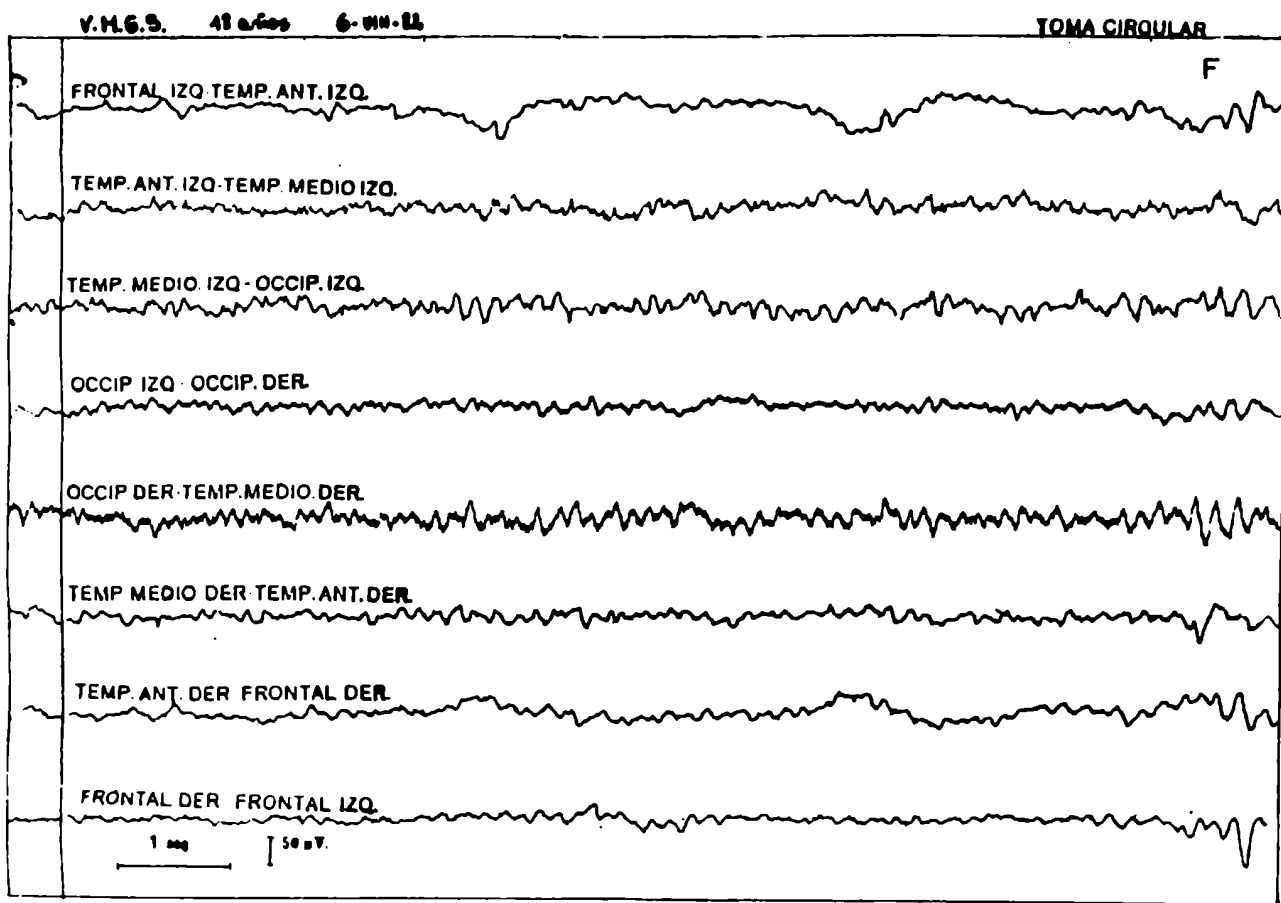
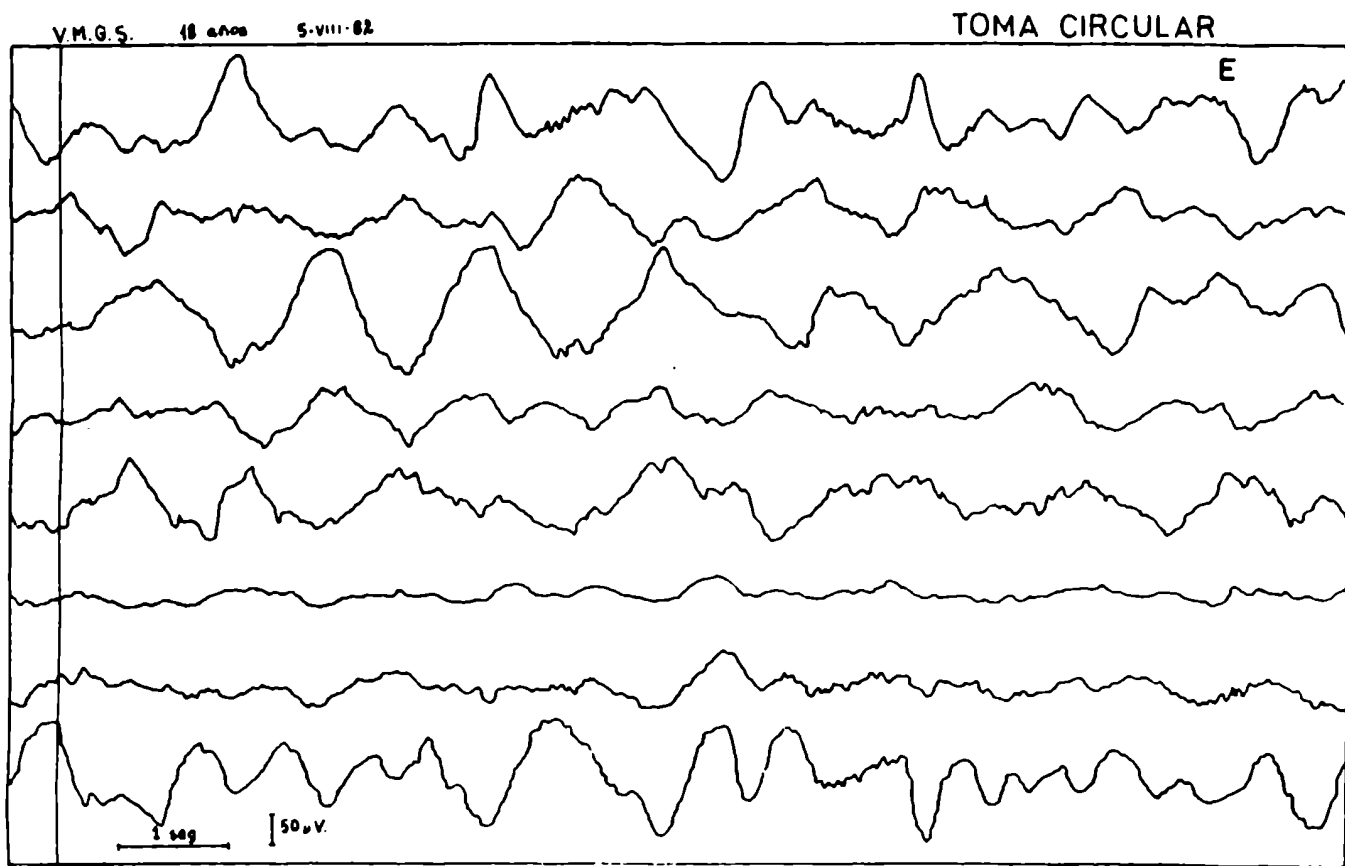


Figura IV.6.: Electroencefalograma efectuado durante plena crisis aguda el 5/8/82 (E) y en remisión clínica el 6/8/82, luego del tratamiento (F).

Ante el cuadro clínico que presentó esta paciente, se sospechó una PAI, por lo cual se llevaron a cabo los estudios en orina, heces y sangre, durante la fase aguda, así como luego de iniciado el tratamiento y en remisión.

Observamos durante la crisis un significativo aumento en la excreción urinaria de los precursores ALA y PBG; asimismo las porfirinas están muy elevadas, se considera que la mayor parte de las mismas provienen de una síntesis no enzimática a partir del exceso de PBG, de allí que veamos que el patrón asociado está constituido principalmente por uroporfirina, sin embargo, se detecta también cierta proporción de intermediarios y coproporfirina, esto podría atribuirse a una disminución en la actividad de la Uroporfirinógeno Decarboxilasa (Brodie y col., 1977). La concentración de porfirinas en heces se encuentra apenas sobre el nivel normal y el patrón tampoco muestra cambios con respecto a los controles.

En cuanto a las enzimas, la actividad del ALA-D se halla dentro del rango normal, descartándose cualquier asociación con una intoxicación por plomo, que posee varios signos en común con la PAI; en cambio es notable la reducción en las actividades de la PBG-asa y la Deaminasa eritrocitarias, característica de este tipo de porfiria.

En base a estos datos, se confirmó el diagnóstico de PAI, y se procedió inmediatamente al tratamiento, basado en la administración intravenosa de una solución glucosada al 5%, en forma continua. Ya dentro de las 24 horas de iniciada la terapia se observó una clara recuperación clínica, con completa remisión de la sintomatología mencionada a las 72 horas. Paralelamente tuvo lugar una disminución en la excreción urinaria de ALA, PBG y porfirinas, y un ligero incremento en las actividades de la PBG-asa y Deaminasa, de acuerdo con observaciones anteriores de Brodie y col. (1977), empleando un tratamiento similar,

Del estudio bioquímico completo de cinco familiares consanguíneos de la paciente resultó que, excepto la paciente y una hermana, todos los demás miembros refirieron no haber experimentado nunca ninguno de los síntomas de la PAI; la hermana de 20 años de edad, soltera, estudiante, residente en Tucumán, informó sin embargo que a los 16 años, luego de una apen-

dicectomy, en el post-operatorio había sufrido de fuertes dolores abdominales generalizados durante cuatro días, que también se le manifiestan durante el período menstrual.

Como podemos observar en la Tabla IV.6., los niveles de ALA, PBG y porfirinas urinarias, así como de porfirinas fecales, fueron normales en todos los familiares; sin embargo, tanto en la madre como en el hermano y la hermana menor, las actividades de PBG-asa y Deaminasa estaban disminuidas aproximadamente a la mitad, indicando claramente que los tres son portadores del defecto enzimático característico de la PAI, es decir son casos latentes, como se ha esquematizado en la Figura IV.6.D. El padre es completamente normal, y los valores de PBG-asa y Deaminasa de la hermana mayor podríamos decir que se encuentran dentro del rango normal menor, de manera que teniendo en cuenta la alta penetrancia del gen en esta familia y el hecho de que valores aparentemente normales de actividad no pueden excluir una PAI latente (With y Pedersen, 1981), ha sido importante prevenir también a esta joven acerca de las restricciones aconsejadas para portadores asintomáticos de la enfermedad.

Es interesante señalar que en esta familia los niveles enzimáticos están en relación con la expresión de la penetrancia genética, como fuera sugerido por With y Pedersen (1981); se confirma una vez más que cada familia de PAI posee sus propios límites de discriminación entre portadores y no portadores de la falla, y que los datos obtenidos están de acuerdo con una transmisión hereditaria mendeliana dominante. Por otro lado, a pesar de haberse podido estudiar apenas seis miembros en dos generaciones, observamos que sólo uno de los cuatro casos diagnosticados claramente como PAI ha presentado las manifestaciones clínicas de la enfermedad, lo cual también concuerda con el hecho de que éstas se evidencian en un 10-20% de los portadores del gen, mientras que el resto puede permanecer asintomático toda la vida, lo cual por supuesto depende de un gran y variable número de conocidos factores, que pueden desencadenar la crisis.

En la Familia 7 (Tabla IV.7. - Figura IV.7.), aparecieron los primeros síntomas en la paciente con dolores musculares y orinas oscuras, hace tres años, después de haber sufrido un accidente y haber sido operada de un embarazo ectópico. Des

de entonces tuvo otros tres ataques con remisión espontánea.

Tabla IV.7.: Parámetros bioquímicos

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	ORINA			HCBES	SANGRE				
					ALA	PBG	Porf.	Porf.	ALA-D	PBG-asa	Deam.	Bios.Porf.	
												2 h	4 h
7	Ia	M	46	no	ND	ND	ND	ND	ND	17,40	40,10	ND	ND
	Ib	F	41	no	ND	ND	ND	ND	ND	32,00	70,15	ND	ND
	IIa	M	18	no	ND	ND	ND	ND	ND	17,25	43,90	ND	ND
	IIb	F	21	no	ND	ND	ND	ND	ND	17,20	26,60	ND	ND
	IIc	F	22	no	ND	ND	ND	ND	ND	32,80	58,20	ND	ND
	IIe (pr)	F	24	si	14,61	97,00	ND	112,1	ND	22,40	55,20	ND	ND

En esta familia sólo fue posible determinar los parámetros consignados, dado que únicamente se obtuvieron muestras de sangre para la determinación de las enzimas PBG-asa y Deaminasa.

De los datos bioquímicos podemos trazar el cuadro que se ilustra en la Figura IV.7.D; observamos que ha heredado la enfermedad de su padre y dos de sus hermanos son portadores latentes; la penetrancia en esta familia, como en la anterior, es también alta.

En la Familia 8 (Tabla IV.8. - Figura IV.8.), tenemos nuevamente, además de la paciente sintomática, otra hermana con PAI manifiesta y la niña de 8 años como portadora de la falla. Hay una hermana normal pero sólo se han podido estudiar cuatro miembros de esta familia. Las enfermas reciben durante los ataques agudos una terapia conjunta de solución dextrosada al 5% y ácido fólico, a la cual responden rápidamente, pero con frecuencia, como consecuencia de dietas hipocalóricas, inducen crisis.

La paciente de la Familia 9 (Tabla IV.9. - Figura IV.9.) fue diagnosticada como PAI en 1977, y había sufrido varios ataques hasta que el último comenzó a fines de junio de 1982 con un dolor hipogástrico continuo de intensidad creciente, a ello se sumó una tetraparesia progresiva y finalmente insuficiencia respiratoria, por lo cual se la traqueostomizó y

recibió asistencia respiratoria mecánica, falleciendo sin embargo a los pocos días. Presentaba además el cuadro neurológico típico. El hijo mayor tiene trastornos en el crecimiento y ambos niños de 10 y 11 años son portadores latentes de la enfermedad.

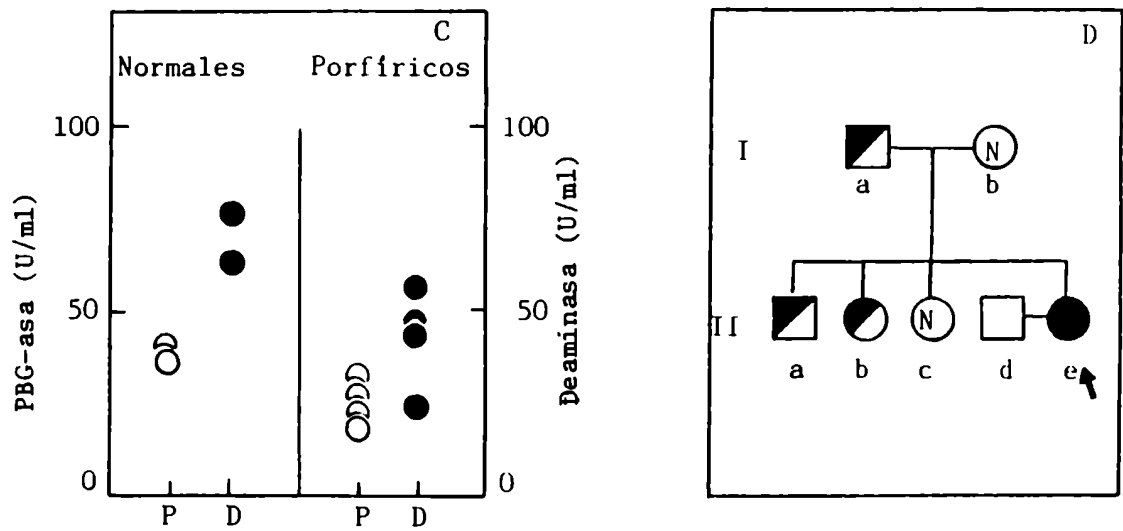


Figura IV.7.: *Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 7.*

En la Familia 10 (Tabla IV.10. - Figura IV.10.) solamente la paciente es una PAI, con la sintomatología típica y ataques intermitentes desde hace 23 años.

El paciente de la Familia 11 (Tabla IV.11. - Figura IV.11.) también falleció durante un ataque agudo de PAI, por insuficiencia respiratoria. Dos de sus hijas son portadores de la falla en tanto que el hijo es normal.

También la paciente de la Familia 12 (Tabla IV.12. - Figura IV.12.) murió el 24 de diciembre de 1982 luego de dos meses de haber recibido asistencia respiratoria mecánica, sin responder en ningún momento a la terapia con carbohidratos, o ácido fólico y en base a ello se resolvió realizar el tratamiento con hematina; se le administró en dos oportunidades en do-

sis de 2 mg/kg peso la primera vez y 4 mg/kg peso la segunda pero tampoco resultó efectivo. La paciente sufrió su primer y único ataque, sin haber tenido ningún antecedente, 65 días antes de su muerte, a raíz de haber sido medicada con un anti-biótico contraindicado, por una posible infección intestinal, a las 24 horas la joven sufrió una parálisis diafragmática no muy común, de la cual no se recuperó nunca. También había hipo natremia y otros síntomas abdominales, pero no presentaba a parentemente grandes problemas neurológicos. Sin embargo no podía hablar y estaba completamente paralizada. El electromio grama reveló una falta total de respuesta al estímulo y por la biopsia del nervio siático se observó un 90% de desmielini zación. La joven había heredado la falla a través de la línea materna; su madre y abuela son portadores latentes, su hermana y otros miembros de la familia estudiados (Figura IV.12.D) son normales y la penetrancia en esta familia está entre las más bajas que hemos encontrado.

Tabla IV.8.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	O R I N A			HECES	S A N G R E				
					ALA	PBG	Porf.	Porf.	ALA-D	PBG-asa	Dens.	Bion.Porf.	
												2 h	4 h
8	IId	F	28	si	6,30	13,62	673,2	512,1	0,642	13,50	34,40	8,82	18,91
	IIe (pr)	F	30	si	22,10	70,10	1.572,3	261,3	0,624	12,40	26,50	6,30	12,52
	IIIf	F	34	no	2,58	3,88	40,2	39,5	1,010	32,52	77,45	18,73	41,82
	IIIm	F	8	no	1,14	1,94	37,5	61,1	0,566	21,52	42,15	18,60	40,83

No se dispone de datos bioquímicos del hermano (IIg) de la paciente, pero las referencias clí nicas lo señalan como un típico caso de Porfi- ria Aguda.

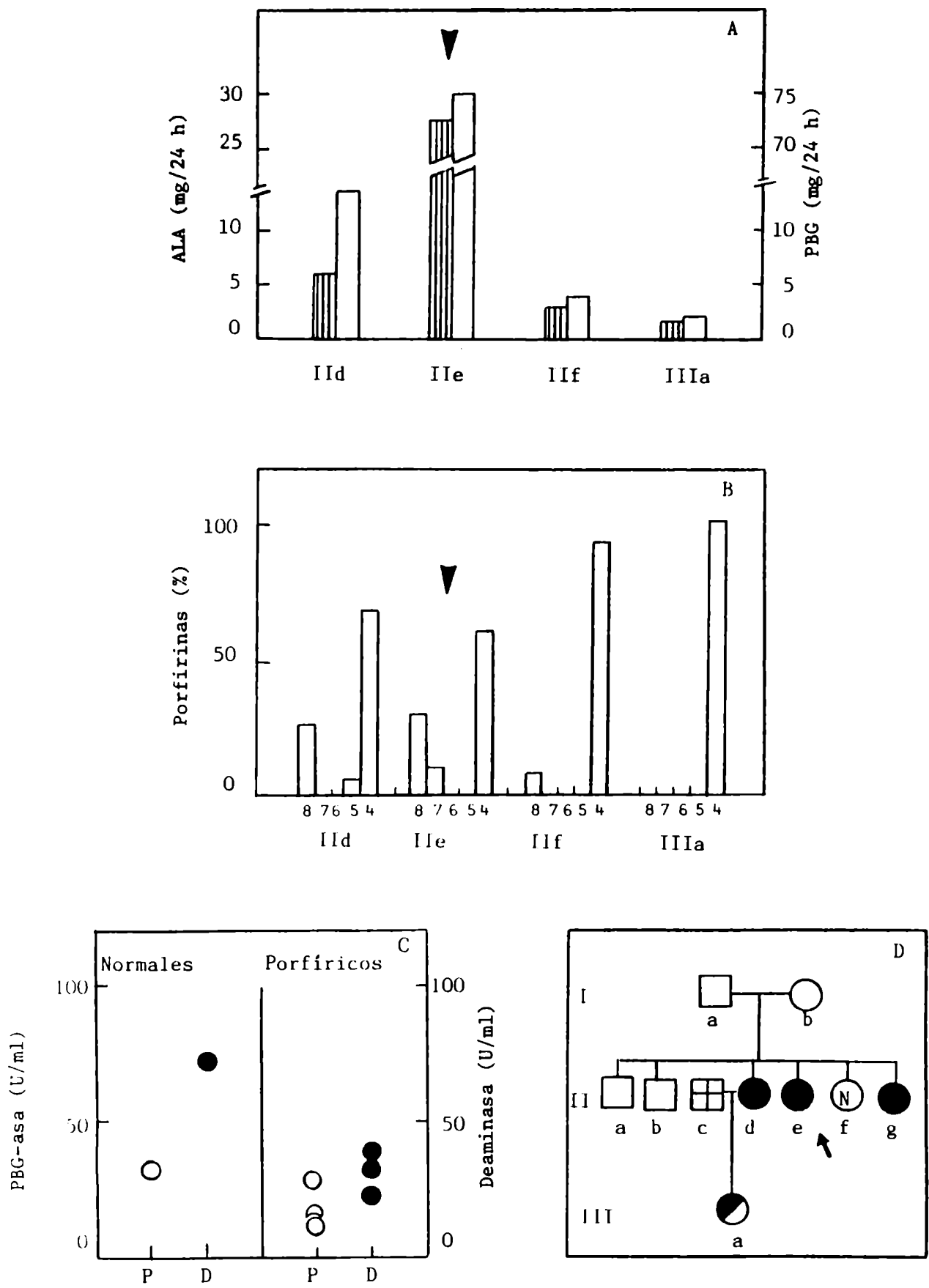


Figura IV.8.: Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 8.

Tabla IV.9.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	O R I N A			HECES	S A N G R E				
					ALA	PBG	Porf.	Porf.	ALA-D	PBGasa	Deam.	Bios. Porf.	
												2 h	4 h
9	Ia	M	42	no	1,90	1,50	35,8	47,1	ND	32,33	68,92	ND	ND
	Ib (pr)	F	39	si	15,21	112,10	1.089,1	1.183,2	ND	15,20	35,80	ND	ND
	IIa	M	10	no	2,11	2,45	36,9	67,8	0,720	10,32	23,51	7,08	15,01
	IIb	M	11	no	1,80	2,43	35,1	46,1	0,566	15,20	35,53	7,10	15,23

La paciente de la Familia 13 (Tabla IV.13. - Figura IV.13.) comenzó su crisis con una disritmia a los 18 años, a parentemente como consecuencia de una gran ingestión de Novalgina. Llegó a padecer de una parálisis total, sin poder caminar por largo tiempo. Nunca se recupera completamente de sus dolores y tiene serios problemas con su período menstrual habiendo ocasiones en que no menstrúa hasta durante cinco meses. Una de sus hermanas falleció probablemente de PAI a la edad de 22 años y aparentemente el portador de la enfermedad sería su padre, pero como éste no vive más con la familia no se pudo estudiar. Dos de sus hermanos y un sobrino de 4 años también son portadores latentes (Figura IV.13.D).

El paciente de la Familia 14 (Tabla IV.14. - Figura IV.14.), comenzó con problemas de vómitos a los cuales siguieron dolores musculares, debilitamiento general y en ocho meses perdió 35 kg de peso. Sufría además de dolores abdominales y cefaleas, trastornos de percepción, mareos y flojedad muscular, depresión nerviosa hasta el llanto, temblor de manos y dorso superior, taquicarda aún en reposo y emitía orinas oscuras.

En diciembre de 1982 comenzó a tratarse con ácido fólico (20 mg/día) en semanas alternadas, durante 3 meses, es decir seis semanas en total. Actualmente el paciente está completamente recuperado, tanto física como psíquicamente; retornó a su empleo y recobró su peso normal de 90 kg. Ha referido que su padre sufría de trastornos similares y sus dos hijos pequeños de 2 y 3 años han heredado su enfermedad.

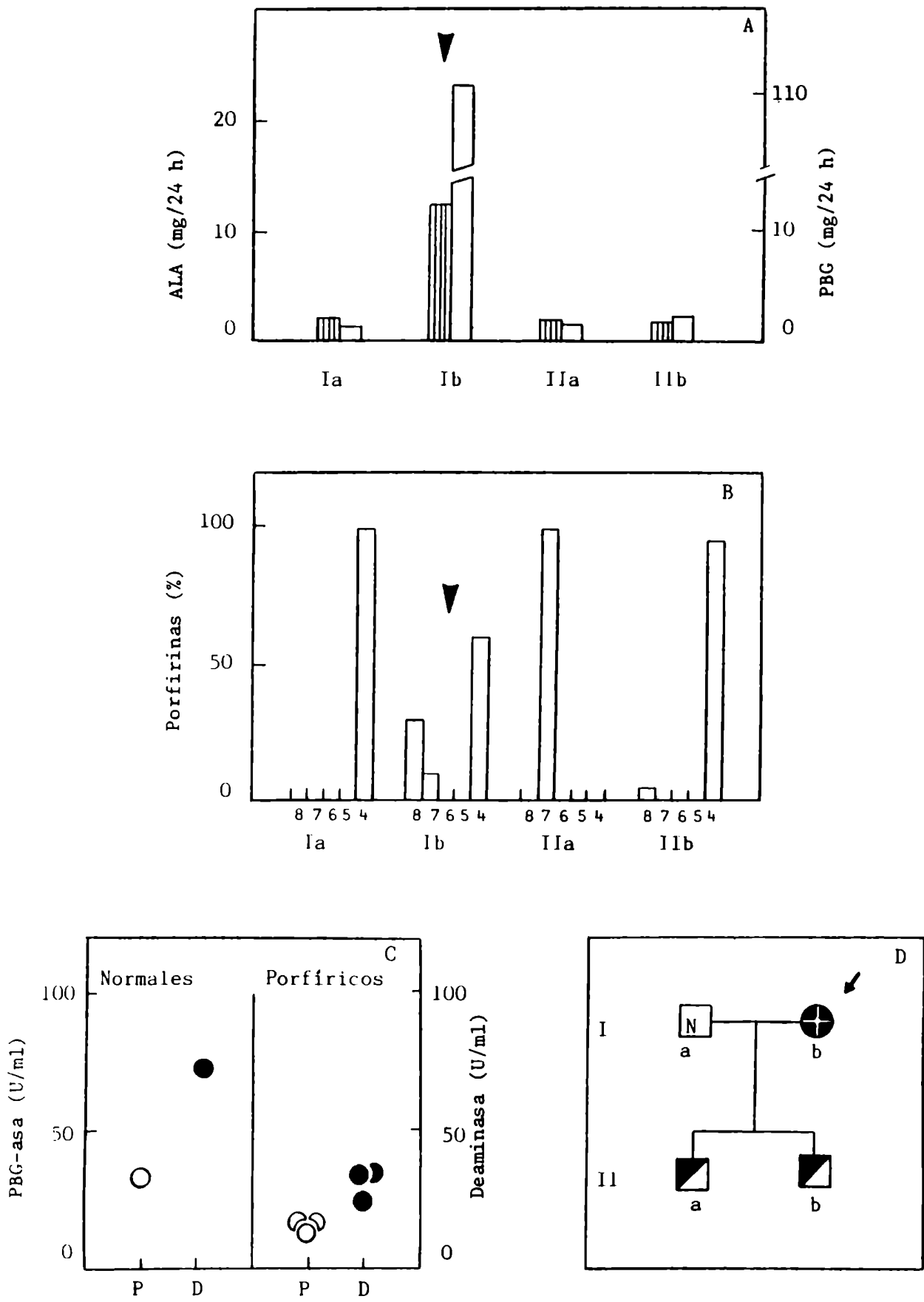


Figura IV.9.: *Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 9.*

Tabla IV.10.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	O R I N A			HECES	S A N G R E				
					ALA	PBG	Porf.	Porf.	ALA-D	PBG-asa	Damm.	Biom. Porf.	
												2 h	4 h
10	Ia	M	50	no	2,95	3,39	14,8	181,1	0,636	30,20	84,09	8,15	22,09
	Ib (pr)	F	48	el	2,73	6,85	202,3	143,7	0,854	16,10	43,05	4,62	10,16
	IIa	M	16	no	1,32	1,25	27,3	108,2	0,948	37,92	91,25	7,27	18,69
	IIb	F	14	no	1,72	1,15	23,2	151,2	1,209	34,80	70,72	18,53	36,83

En la Figura IV.15. (A,B), se han graficado todos los valores de actividades enzimáticas obtenidos, observándose, como ya lo habíamos mencionado que existe una zona de superposición entre los valores normales y porfíricos y enfatizando una vez más, la importancia de determinar los valores límites normales para cada familia.

Finalmente, en la Tabla IV.15. hemos resumido también el resultado de la aplicación de la suma de los datos clínicos y los de laboratorio para el establecimiento del diagnóstico de la PAI.

Se estudiaron entonces 85 miembros de 14 familias, de los cuales 34 de ellos, es decir un 40%, fueron normales y el 60% restante fueron porfíricos sintomáticos o latentes. Entre los primeros hubo un 21%, de ellos el 83% fueron mujeres, es decir, como también señaláramos, dentro de los casos manifiestos hay una notable prevalencia del sexo femenino, en cambio los 33 latentes, prácticamente se repartieron en partes iguales entre hombres y mujeres, y de ellos un 25% fueron niños menores de 11 años.

Es interesante observar también la importante penetrancia del gen, lo cual, reiteramos está de acuerdo con la transmisión genética dominante mendeliana de esta enfermedad.

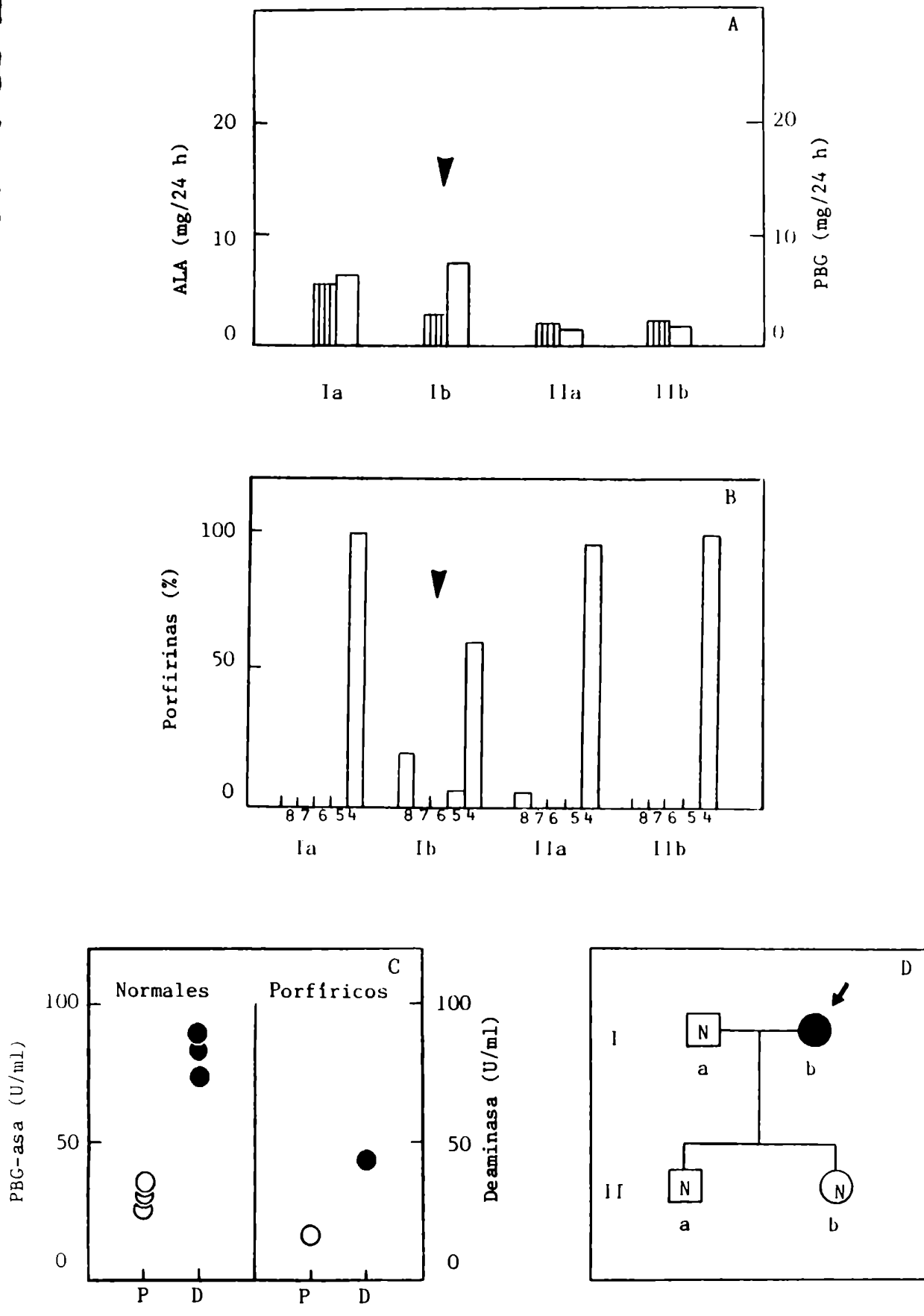


Figura IV.10.: *Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 10.*

Tabla IV.11.: Parámetros Bioquímicos

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	O R I N A			HECES	S A N G R E				
					ALA	PBG	Porf.	Porf.	ALA-D	PBG-asa	Deam.	Bios. Porf.	
												2 h	4 h
11	Ia (pr)	M	46	si	9,68	77,07	2.750,3	ND	ND	16,30	33,30	ND	ND
	Ila	M	20	no	2,34	2,20	39,4	ND	ND	22,10	56,50	ND	ND
	Iib	F	22	si	3,80	10,10	266,6	ND	ND	12,38	37,85	ND	ND
	Iic	F	24	no	2,53	2,10	17,85	ND	ND	14,54	39,51	ND	ND

De esta familia no se dispuso de muestras de heces ni suficiente sangre como para poder completar todos los estudios.

IV.4. CONCLUSIONES

Es importante enfatizar que para poder establecer un diagnóstico preciso de PAI, es necesario llevar a cabo un análisis del cuadro clínico, al cual debe sumarse un estudio bioquímico completo, que incluya determinaciones de ALA, PBG y porfirinas urinarias en los casos clínicamente manifiestos, tanto en la fase aguda como en remisión. Es además fundamental la medición de las actividades de PBG-asa y/o Deaminasa en eritrocitos, estas enzimas se encuentran disminuidas aproximadamente a la mitad en todos los portadores de PAI, ya sean clínicamente sintomáticos o latentes, y es un dato importante que permite además distinguir claramente una PAI de las otras porfirias neurológicas agudas.

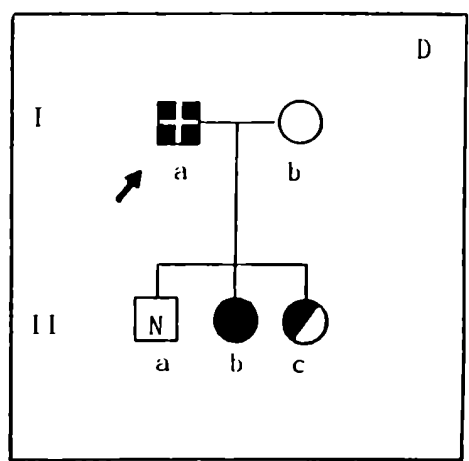
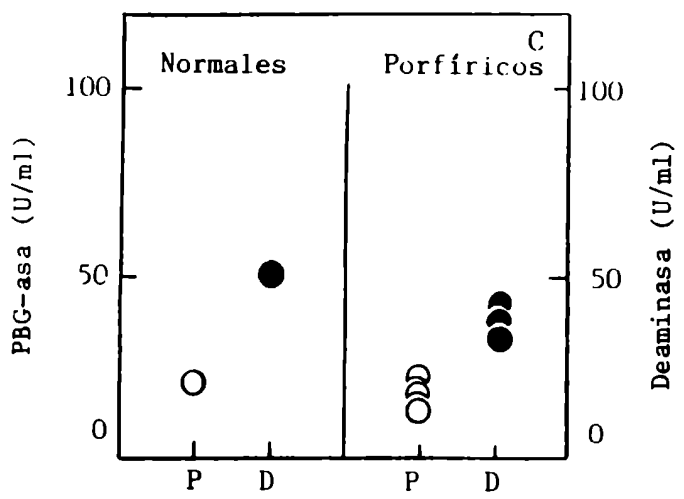
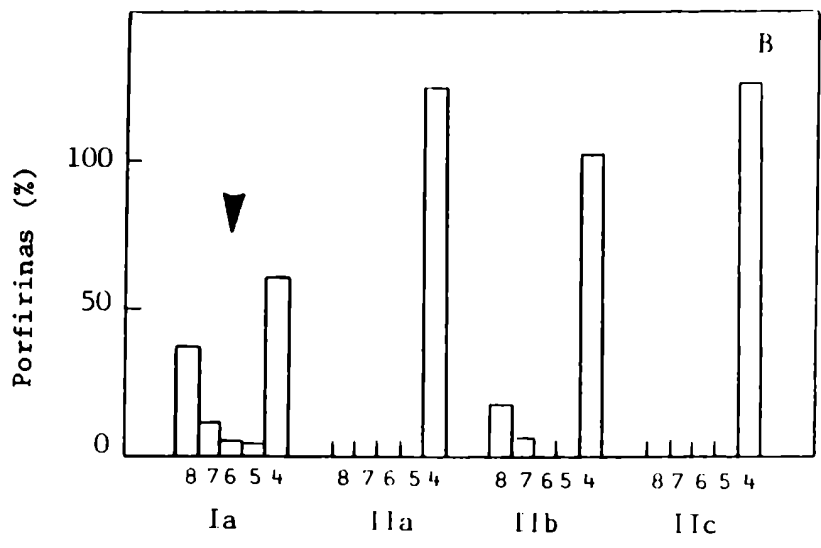
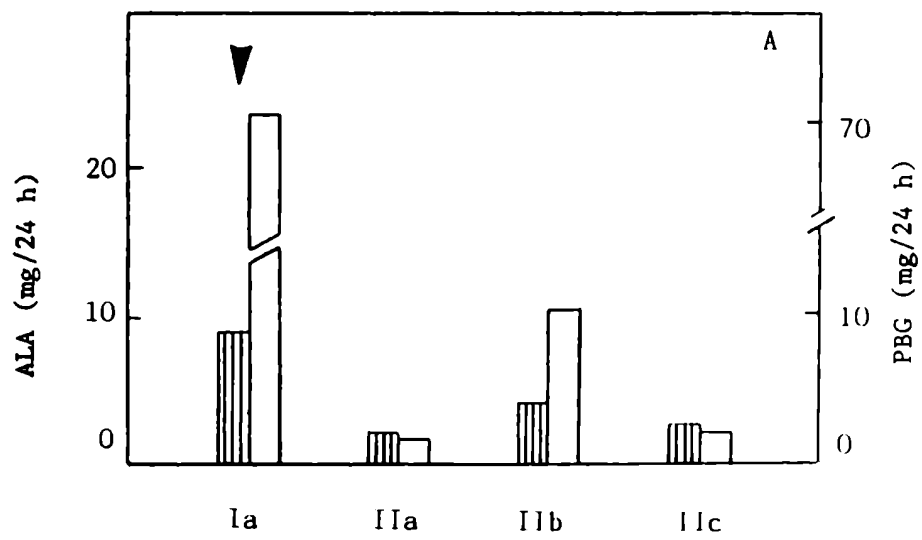


Figura IV.11.: *Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 11.*

Tabla IV.12.: *Parámetros Bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	ORINA			HECES	SANGRE				
					ALA	PBG	Porf.	Porf.	ALA-D	PBG-ana	Deam.	Bios. Porf.	
												2 h	4 h
12	Ib	F	72	no	ND	ND	ND	ND	ND	17,57	33,22	ND	ND
	IIa	M	32	no	ND	ND	ND	ND	0,455	25,72	51,15	12,04	26,29
	IIb	M	41	no	ND	ND	ND	ND	ND	26,15	61,28	ND	ND
	IIc	M	45	no	ND	ND	ND	ND	0,749	26,53	61,35	7,33	17,37
	IId	F	43	no	5,13	34,12	317,8	ND	0,704	16,91	31,55	5,05	10,12
	IIIa	M	11	no	ND	ND	ND	ND	0,707	28,50	57,83	8,74	17,79
	IIIb	M	9	no	ND	ND	ND	ND	0,767	29,40	57,20	9,89	21,21
	IIIc	F	2	no	ND	ND	ND	ND	0,586	27,10	59,56	ND	ND
	IIId	F	13	no	ND	ND	ND	ND	1,016	32,10	70,65	14,27	27,26
	IIIe (pr)	F	17	si	4,07	102,90	3.606,6	ND	0,438	15,20	39,70	6,51	16,99

En esta familia sólo se obtuvieron valores urinarios de precursores y porfirinas para la paciente y su madre, pero no se dispuso de muestras de orina ni heces de los demás familiares.

Por cuanto se trata de una porfiria hereditaria, es importante realizar un estudio completo del mayor número de familiares consanguíneos posibles, con el objeto de poder detectar casos latentes de PAI. El diagnóstico familiar es fundamental para la identificación tanto de los casos clínicamente manifiestos como de los portadores asintomáticos, pues permite aplicar una terapia preventiva en los primeros y evitar en ambos grupos la administración de una gran cantidad de medicamentos, que se sabe pueden precipitar ataques agudos o de desencadenar la enfermedad.

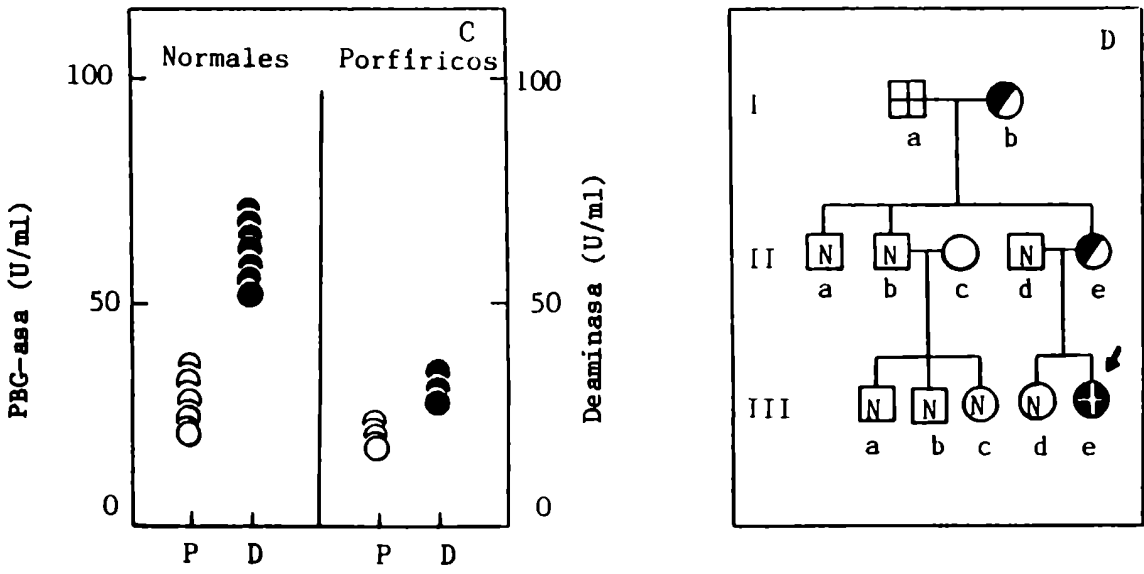


Figura IV.12.: Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 12.

Tabla IV.13.: Parámetros bioquímicos

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	ORINA			HIFES	SANGRE					
					ALA	PBG	Porf.		Porf.	ALA-D	PBG-asa	Deam.	Rios. Porf.	
													2 h	4 h
13	Ib	F	45	no	0,49	0,69	18,2	323,6	0,464	37,30	59,30	13,52	32,17	
	IIb	M	26	no	3,80	14,20	854,1	258,8	0,427	17,40	33,81	6,43	15,90	
	IIc	M	28	no	0,33	0,51	56,1	232,1	0,308	35,60	55,40	11,75	25,39	
	IIf (pr)	F	20	si	14,82	104,25	1.085,2	285,2	0,879	21,70	31,00	5,92	14,33	
	IIg	F	29	no	2,70	14,52	517,7	585,5	0,869	20,70	30,92	5,35	14,00	
	IIIa	F	2	no	0,15	0,36	4,1	38,6	0,347	50,23	76,15	ND	ND	
	IIIb	M	4	no	0,74	0,64	19,9	83,9	0,803	21,70	41,95	10,85	23,61	

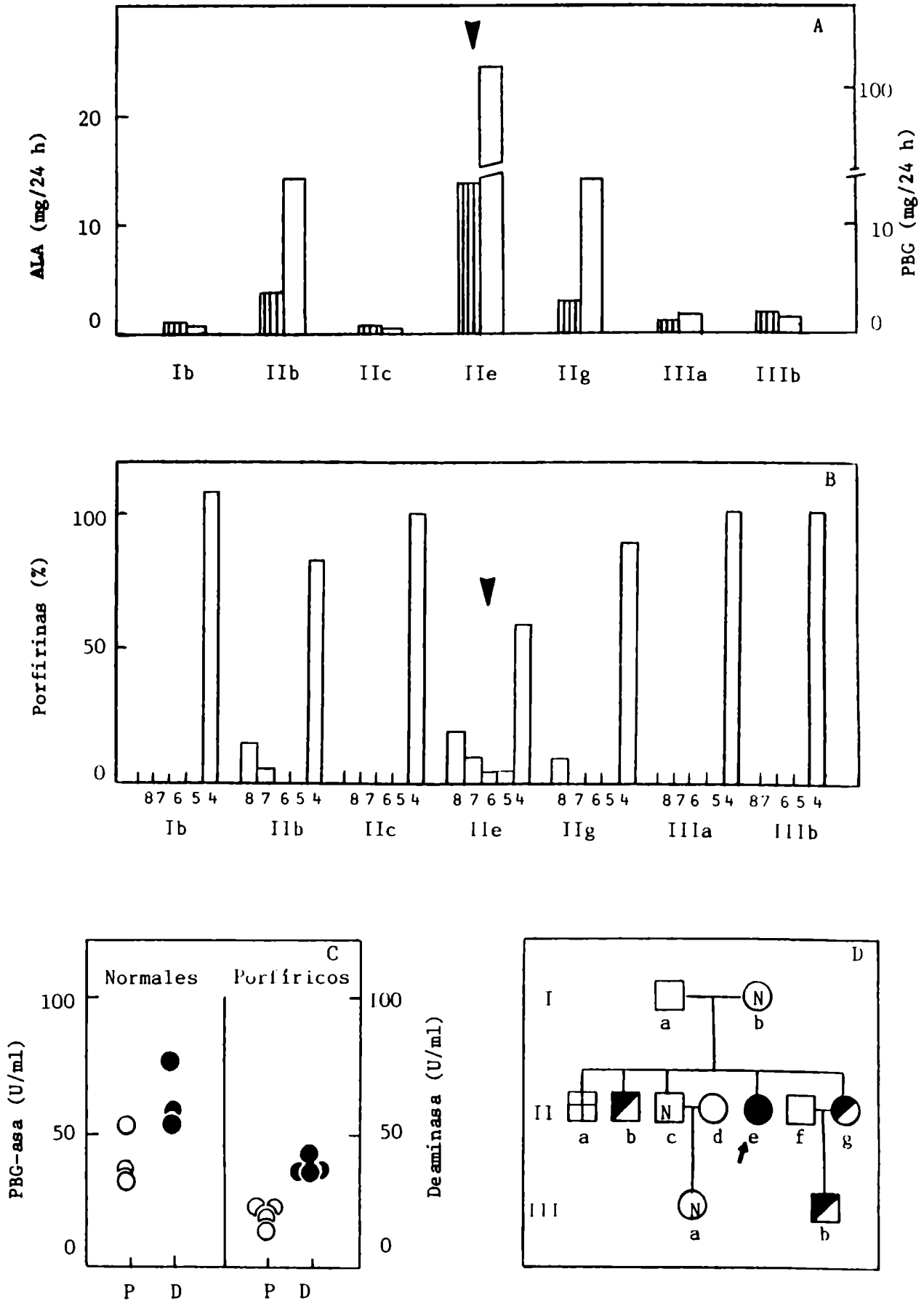


Figura IV.13.: *Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 13.*

Tabla IV.14.: Parámetros bioquímicos

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	ORINA			HECES	SANGRE				
					ALA	PBG	Porf.	Porf.	ALA-D	PBG-asa	Dema	Bios. Porf.	
												2 h	4 h
14	Ila (pr)	M	32	si	24,21	88,35	1.313,6	279,2	0,417	15,40	36,50	4,89	13,32
	IIf	F	30	no	1,60	1,20	150,0	50,0	ND	32,24	74,52	ND	ND
	IIla	M	2	no	2,10	3,15	18,5	43,2	1,078	24,22	45,28	ND	ND
	IIIf	F	3	no	1,80	2,80	25,0	53,1	1,145	22,41	43,72	6,70	13,81

No se dispone de datos bioquímicos del padre del paciente fallecido, pero las referencias clínicas lo señalan como un típico caso de Porfiria Aguda.

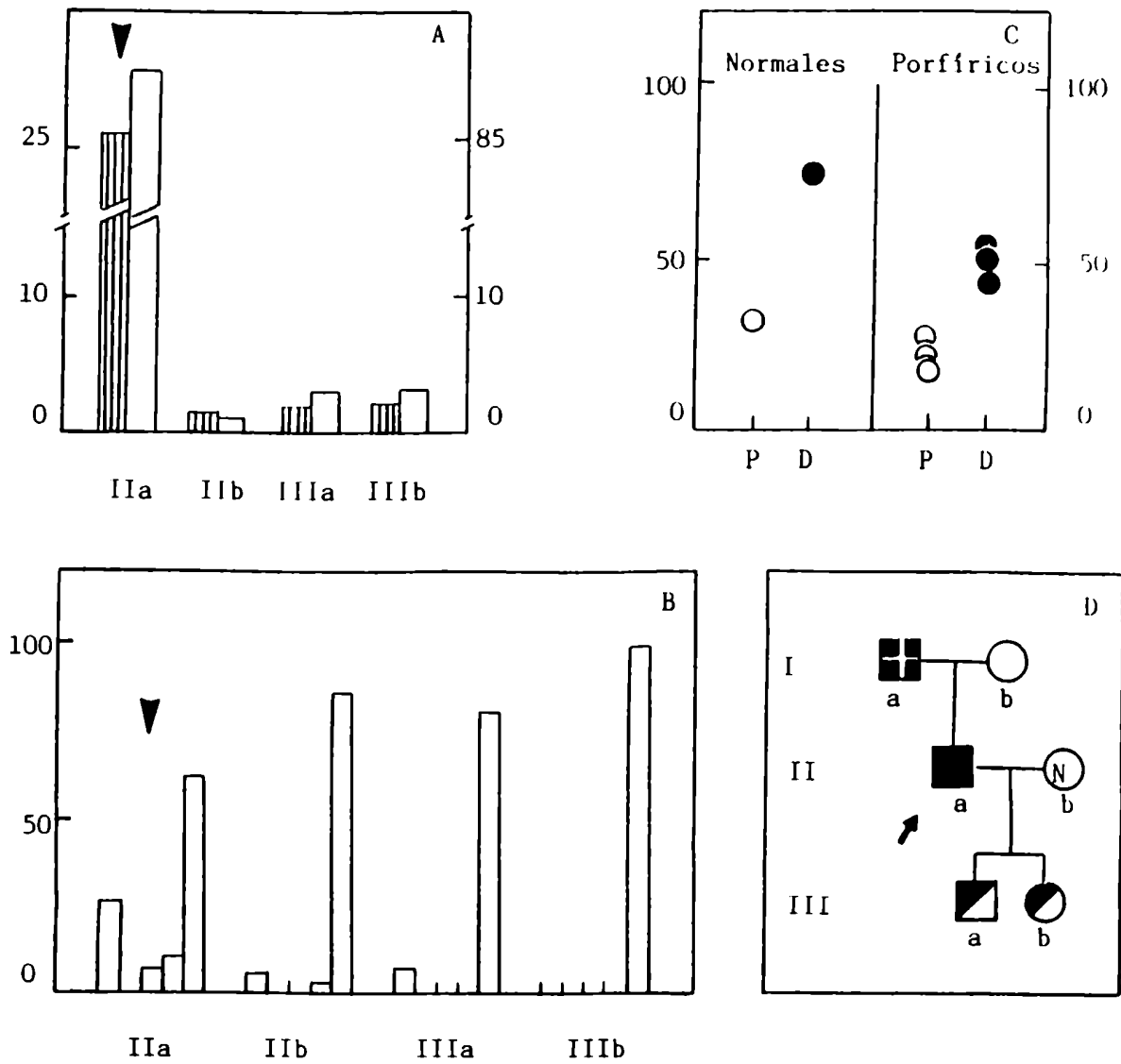


Figura IV.14.: Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 14.

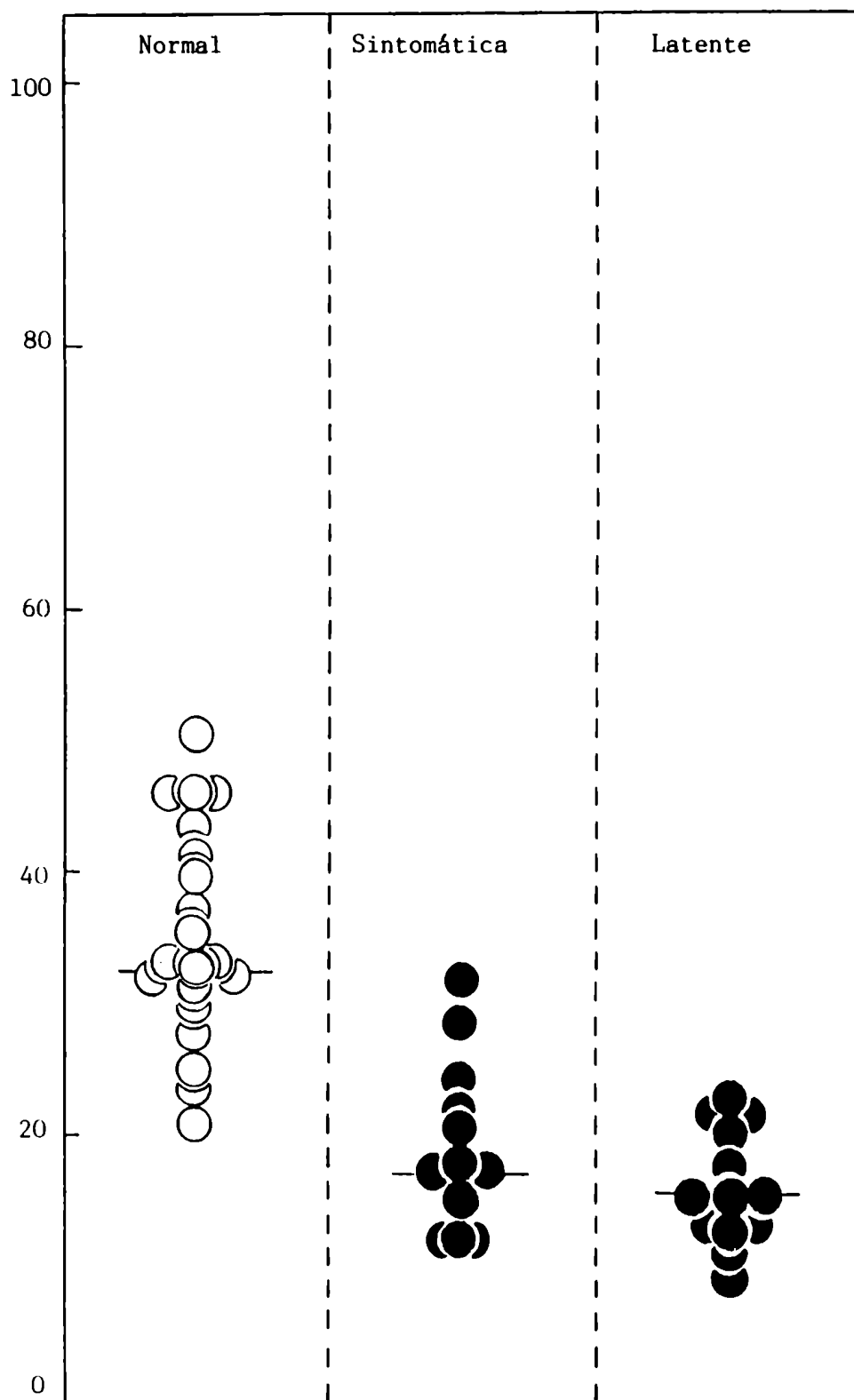


Figura IV.15.A: Valores de actividad de PBG-asa de las 14 familias.
 (○) Normales; (●) PAI sintomática o latente

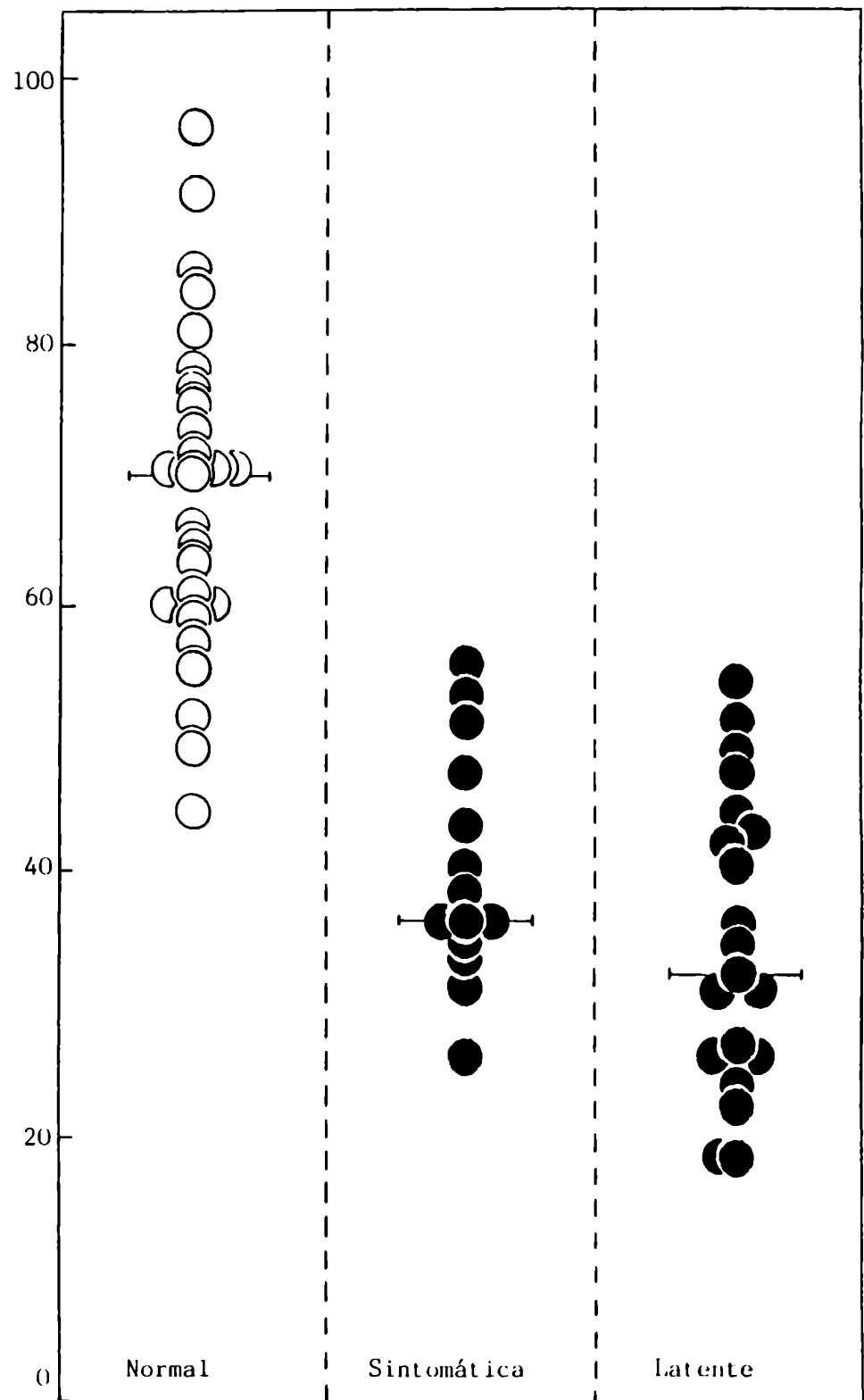


Figura IV,15.B: *Valores de actividad de Deaminasa de las 14 familias.*
 (○) Normales; (●) PAI sintomática o latente

Tabla IV.15.: Incidencia de la PAI sintomática y latente en 14 familias

FAMILIA	GENERACIONES	SEXO	NUMERO DE CASOS										PENETRANCIA (*)
			Estudiados		Normales		P A I						
							Manifiestos		Latentes		Niños		
1	3	F M	4 3	7	3 1	4	1 -	1	- 2	2	- -	-	0,43
2	3	F M	4 1	5	1 -	1	1 -	1	2 1	3	- -	-	0,80
3	3	F M	6 3	9	1 -	1	1 -	1	4 3	7	1 1	2	0,88
4	3	F M	4 2	6	- 2	2	2 -	2	2 -	2	- -	-	0,66
5	2	F M	6 3	9	4 1	5	1 1	2	1 1	2	- -	-	0,44
6	2	F M	4 2	6	2 -	2	1 -	1	2 1	3	- -	-	0,67
7	2	F M	4 2	6	2 -	2	1 -	1	1 2	3	- -	-	0,67
8	2	F M	4 -	4	1 -	1	2 -	2	1 -	1	1 -	1	0,75
9	2	F M	1 3	4	- 1	1	1 -	1	- 2	2	- 2	2	0,75
10	2	F M	2 2	4	1 2	3	1 -	1	- -	-	- -	-	0,25
11	2	F M	2 2	4	- 1	1	1 1	2	1 -	1	- -	-	0,75
12	3	F M	5 5	10	2 5	7	1 -	1	2 -	2	- -	-	0,30
13	3	F M	4 3	7	1 2	3	1 -	1	1 2	3	- 1	1	0,57
14	2	F M	2 2	4	1 -	1	- 1	1	1 1	2	1 1	2	0,75
	TOTALES	F M	52 33	85	19 15	34	15 3	18	18 15	33	3 5	3	
	Σ	F M	61 39	100	55 45	40	83 17	21	55 45	39	37 63	25	

(*) Se expresa la penetrancia del gen como el número de miembros de la familia con PAI sintomática o latente (es decir enzimas PBG-asa y Deaminasa reducidas) dividido por el número total de miembros de la familia en las cuales se han determinado las enzimas

IV.5. REFERENCIAS

- Albers, J.; Robertson, W. & Daube, J. Muscle & Nerve Jul/Ago (1978) 292.
- Anzil, A. & Dozic, S. Acta Neuropath. (Berl.) 42 (1978) 121.
- Astrup, E. Clin. Sci. Mol. Med. 54 (1978) 251.
- Batlle, A.; Wider de Xifra, E. & Stella, A. Int. J. Biochem. 9 (1978) 871.
- Beauvais, P.; Klein, N.; Denave, I. & Martel, C. Arch. Franc. Péd. 33 (1976) 987.
- Brocklehurst, D.; Wider, E. & Batlle, A. Int. J. Biochem. 12 (1980) 791.
- Brodie, M.; Moore, M.; Thompson, G. & Goldberg, A. Clin. Sci. Mol. Med. 53 (1977) 365.
- Case Records of the Massachusetts General Hospital (Case 41-1975) N. Engl. J. Med. 293 (1975) 817.
- Doss, M. & Tiepermann, R. von. en: "Diagnosis and therapy of porphyrias and lead intoxication" (1978) 29. (Ed. M. Doss) Springer Verlag Publ.
- Drury, R. J. Pathol. Bacteriol. 71 (1956) 211.
- Formgren, B. & Wetterberg, L. Läkartidn (Stockholm) 75 (1978) 1921.
- Gibson, J. & Goldberg, A. J. Pathol. Bacteriol. 71 (1956) 495.
- Jusić, A.; Sostarko, M. & Majić, M. Eur. Neurol. 14 (1976) 294.
- Kreimer-Birnbaum, M.; Bonkowsky, H. & Bottomley, S. Int. J. Biochem. 12 (1980) 807.
- Lamon, J.; Bennett, M.; Frykholm, B. & Tschudy, D. Lancet 2 (1979) 492.
- Ludwig, D. & Epstein, S. Ann. Int. Med. 55 (1961) 81.
- Magnussen, C.; Doherty, J.; Hess, R. & Tschudy, D. Neurology 25 (1975) 1121.
- Maytham, D. & Eales, L. S. Afr. Med. J. 45 (1971) 99.
- Mustajoki, P. & Seppäläinen, A. Br. Med. J. 2 (1975) 310.

- Parera, V.; Stella, A.; Wider, E.; Fukuda, H. & Batlle, A.
Int. J. Biochem. 12 (1980) 947.
- Peters, H.; Cripps, D. & Reese, H. Int.Rev. Neurobiology 16
(1974) 301.
- Rey-Bellet, J. Rev. Neurol. (Paris) 106 (1962) 147.
- Sassa, S.; Granick, S.; Bickers, D.; Bradlow, H. & Kappas,
A. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 71 (1974) 732.
- Schirger, A.; Martin, W.; Goldstein, N. & Huizenga, K. Proc.
Staff Meet. Mayo Clin. 37 (1962) 7.
- Sergay, S. Med. Arch. N.A. 63 (1979) 454.
- Strand, L.; Meyer, U.; Felscher, B.; Redecker, A. & Marver,
H. J. Clin.Invest. 51 (1972) 2530.
- Vacek, J.; Martásek, V. & Kordac, V. XVth Int. Congr. Int.
Med. Praha Abstracts (1982) 560.
- Waldenström, J. & Haeger-Arönsen, B. Progr. Med. Gen. 5
(1967) 58.
- Whitfield, J.; Stewart, P. & Hensley, W. Clin. Chem. 21
(1975) 981.
- With, T. Z. Klin. Chem. 1 (1963) 134.
- With, T. & Pedersen, J. Dan. Med. Bull. 28 (1981) 27.
- Wochnik-Dyjas, D.; Niewadowska, M. & Kostrewska, E. J. Neurol.
Sci. 35 (1978) 243.

C A P I T U L O V

LA HERENCIA EN LA PORFIRIA VARIEGATA

V. LA HERENCIA EN LA PORFIRIA VARIEGATA

V.1. INTRODUCCION

Como ya se ha señalado la PV es una de las formas agudas hereditarias de las porfirias hepáticas, se transmite con carácter autosómico dominante; los síntomas clínicos incluyen ataques agudos de dolores abdominales, manifestaciones neuropsiquiátricas y/o lesiones fotocutáneas. La principal característica bioquímica es una aumentada excreción de Proto en materia fecal y un diagnóstico diferencial preciso depende precisamente del análisis de las porfirinas fecales (Meyer y Schmid, 1978).

El cuadro clínico y bioquímico de la PV fue descrito por primera vez en 1937 (Van der Bergh y Grotepass), desde entonces el número de casos se ha incrementado significativamente (Mustajoki, 1978).

La PV tiene muchas características en común con las otras formas de porfirias hepáticas agudas. El ataque agudo es una de ellas, éste es típicamente intermitente y con frecuencia precipitado por varias drogas y otros factores (Eales, 1971).

Las porfirias agudas tienen además anormalidades bioquímicas en común. Entre ellas, una importante es el aumento secundario de la actividad del ALA-S en el hígado (Dowdle y col., 1967) y durante el ataque se observa una incrementada excreción urinaria de precursores ALA y PBG (Eales, 1963), existen también disturbios electrolíticos, hiponatremia (Eales y col., 1971), cambios neuropatológicos idénticos (Campbell, 1963) y aún en estado latente se han descrito evidencias de neuropatía periférica en la PV y la PAI (Mustajoki y Seppalainen, 1975).

En muchos casos hay referencias acerca de las manifestaciones cutáneas asociadas con la PV (Eales, 1960).

Los pacientes con PV pueden presentar entonces lesiones cutáneas o ataques o, a veces ambos síndromes.

Las porfirias agudas no se manifiestan clínica o bioquímicamente antes de la pubertad; sin embargo hay unos pocos

casos de PAI y CPH descriptos en niños menores de 12 años, y si bien no está totalmente documentado parece haber también una excepción para la PV, referida por Kramer (1980) en un niño de 5 años quien después de haber sido tratado durante 1 año con carbamacepina, desarrolló los síntomas agudos y cutáneos.

Se ha llevado a cabo un estudio clínico y bioquímico en 6 familias. Se presentarán los datos correspondientes a 20 individuos de los cuales se ha determinado que 7 son sintomáticos, 5 portadores de una porfiria aguda y 8 normales. También se señalarán las características clínicas y bioquímicas que presentan en común los pacientes con PV, que son importantes para el establecimiento del diagnóstico.

V.2. MATERIALES

Como ya dijimos se estudiaron 6 casos de PV clínicamente manifiesta de los cuales uno solo correspondía al sexo masculino y un total de 14 familiares.

Se dispone de las historias clínicas completas de todos los pacientes además de los controles normales. Por lo general también se realizaron los siguientes estudios: orina completa, hemograma, eritrosedimentación y biopsias de piel.

V.3. RESULTADOS Y DISCUSION

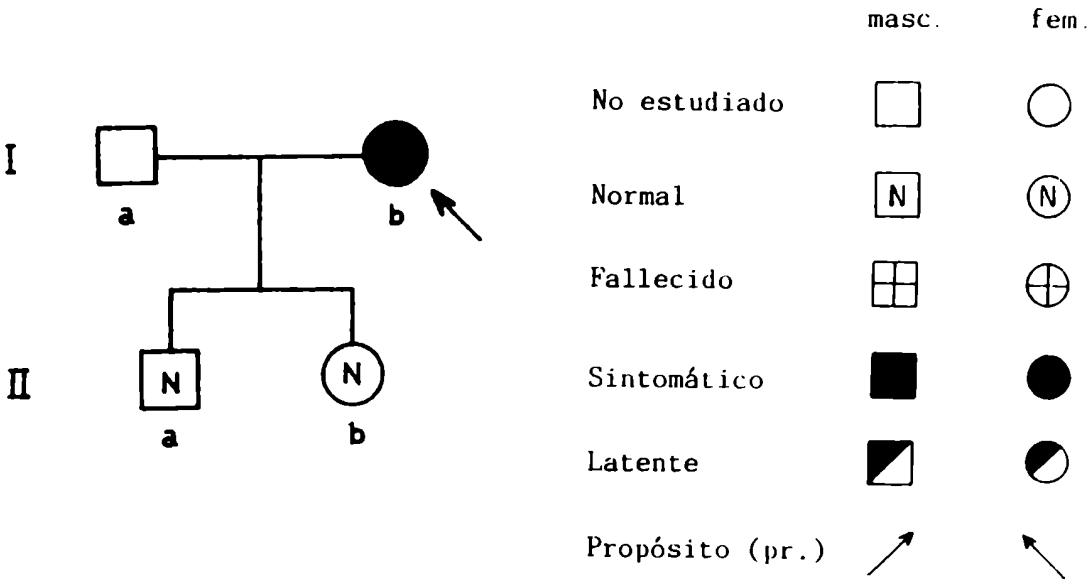
En las Tablas V.1. a 6. y en las Figuras V.1. a 6. se muestran los datos obtenidos para las 6 familias estudiadas.

En el caso de la familia 1 (Tabla V.1., Figura V.1.) la paciente, residente en Córdoba es madre de dos hijos. Ella refiere haber sufrido 3 crisis en los años 1961, 1966 y 1972 respectivamente; las dos primeras provocadas por la administración de anestesia y la tercera por antibióticos y tranquilizantes, con la aparición de orinas oscuras en los tres episodios. Luego entró en fase de remisión manteniéndose en esta forma hasta el momento. Su estado clínico general es muy bueno y sin sintomatología cutánea.

Tabla V.1.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	O R I N A			HECES	S A N G R E			
					ALA	PBG	Porf.	Porf.	Fluor. Plasma	ALA-D	PBG-asn	Deam.
I	Ib	F	39	si fr	4,42	6,16	307,7	414	+	0,610	41,35	95,13
	IIa	M	16	no	2,50	1,00	85	30	-	0,529	36,95	73,11
	IIb	F	15	no	2,70	1,50	51	139,6	-	0,329	35,25	68,75

ALA y PBG: mg/24 h; Porfirinas urinarias: µg/24 h; Porfi-
rinas fecales: µg/g seco; ALA-D: nmol PBG/ml GR; PBG-asn
y Deaminasa: nmol porf/ml GR



Si bien se ha estudiado a la paciente durante la fase en remisión, se la ha definido como un caso de PV, por el contenido cuali y cuantitativo de porfirinas en heces, con un aumento del 25% de Proto respecto al valor normal en las mismas. La fluorescencia del plasma fue positiva.

Del estudio bioquímico completo de sus familiares resultan todos los miembros normales.

La paciente de la familia 2 (Tabla V.2., Figura V.2.), residente en Luján, Provincia de Buenos Aires, madre de dos hijos es una típica PV. Ha sufrido dos crisis débiles: la primera, ocurrida en 1971 fue provocada por la administración prolongada de penicilina. La segunda, en 1981 fue desencadenada por el seguimiento de una dieta hipocalórica. La enferma estuvo en contacto continuo durante 4 años, desde 1978, con pinturas y solventes para cerámica. La última crisis se presentó con los típicos dolores abdominales, musculares en los cuatro miembros, con cefaleas, vómitos y orinas oscuras. Se agregaron las lesiones en piel con ampollas y fragilidad cutánea.

La paciente ha referido fragilidad cutánea desde 1968, y la aparición de ampollas en las áreas expuestas de la piel a la luz, típicas de PCT, un año antes de la última crisis. Ambos síntomas surgieron luego de la administración de desinflamatorios y corticoides.

Dos meses antes de la segunda crisis (Tabla V.2. fr) la excreción de precursores se encontraba dentro de los valores normales los cuales sufrieron un aumento significativo durante el episodio agudo.

Como es característico de la PV, se observó el alto contenido de porfirinas en heces, concomitante con la presencia del 51% de Proto en la misma. Los valores de las actividades enzimáticas de ALA-D, PBG-asa, Deaminasa y la biosíntesis de porfirinas fueron normales.

La recuperación clínica total de esta paciente se logró con dieta hiperhidrocarbonada.

Tabla V.2.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	O R I N A			HECES	S A N G R E					
					ALA	PBG	Porf.	Porf.	Fluor. Plasma	ALA-D	PBG-asa	Deam.	Bios. Porf.	
													2 h	4 h
2	Ib	F	40	fr	2,3	2,8	1.401	1.030	+	1,150	42,3	89,0	9,0	20,2
				si	37,0	35,4	15.507	2.079	+	ND	ND	ND	ND	ND
	IIa	M	17	no	1,8	0,8	28,4	170	-	0,849	34,8	69,8	7,3	13,4

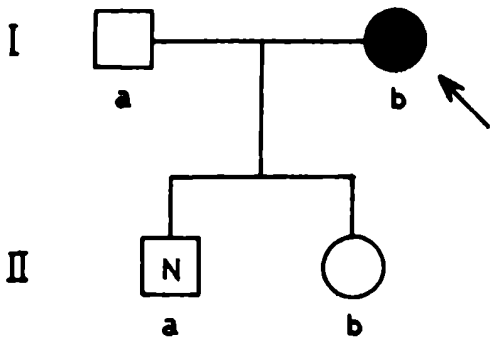


Figura V.2.: *Pedigrée*
Familia 2

La paciente de la familia 3 (Tabla V.3. y Figura V.3.) no ha sufrido hasta el presente ningún ataque agudo. Es casada, sin hijos. Su padre es normal tanto clínica como bioquímica-mente. En 1971 aparecieron los primeros síntomas, que fueron de naturaleza cutánea, en forma de ampollas en zonas expuestas. Ha presentado, asimismo, cefaleas, dolor epigástrico y trastornos abdominales. La paciente fue diagnosticada como PV en diciembre de 1978, presentando una alta concentración de porfirinas fecales con un patrón de excreción aumentado en Proto (52%) y Copro normal.

En junio de 1979 inició el tratamiento con bicarbonato, tomando 3 pastillas (0,65 g c/u) por día y se le ha indicado una terapia de mantenimiento con dieta rica en hidratos de carbono. Es interesante destacar que el conocimiento de su condición y una correcta profilaxis mantienen a la paciente en una continua fase de remisión.

El paciente de la familia 4 (Tabla V.4. y Figura V.4.) ha sufrido un sólo ataque agudo, sin estar acompañado, en ningún momento por lesiones cutáneas. La crisis comenzó en abril de 1983 con dolor epigástrico continuo a intensidad creciente a ello se sumaron náuseas, fragilidad muscular y emisión de orinas oscuras.

Se le administró dexametasona, vitaminas B₆ y B₁₂ y ampliactil para calmar los dolores.

Cuando se encontraba en la fase de remisión, en junio del mismo año, el paciente fue estudiado junto con tres de sus hermanos (Tabla V.4.). El alto contenido de porfirinas fecales con mayor predominio de Proto (49%) no dió lugar a dudas en el diagnóstico de PV.

De acuerdo a los resultados obtenidos, el paciente y una de sus hermanas asintomáticas (II f) son portadores del gen.

La paciente de la familia 5 (Tabla V.5. y Figura V.5.) residente en Mendoza, es madre de cuatro hijos varones. Es interesante destacar que durante los embarazos se agudizaron las lesiones cutáneas y el cuarto hijo nació con ampollas en los dedos.

Tabla V.3.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	O R I N A			HECES	S A N G R E					
					ALA	PBG	Porf.	Porf.	Fluor. Plasma	ALA-D	PBG-asa	Deam.	Bios. Port.	
													2 h	4 h
3	Ia	M	73	no	1,24	1,38	41,35	178	-	0,486	26,76	49,23	13,19	30,17
	IIa	F	39	si fr	8,80	6,40	1.279,00	690	+	0,707	25,91	48,95	9,07	15,79

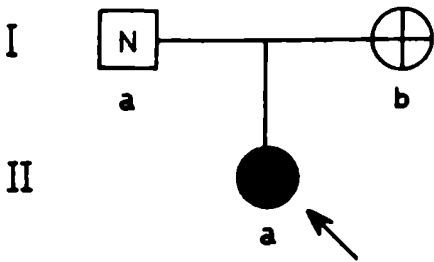


Figura V.3.: *Pedigrée Familia 3*

Tabla V.4.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	ORINA			HECES	SANGRE					
					ALA	PBG	Porf.	Porf.	Fluor. Plasma	ALA-D	PBG-asa	Deam.	Bios. Porf.	
													2h	4 h
4	IIa	M	39	si fr	0,5	2,2	270,3	964,7	+	0,314	52,21	116,67	13,16	34,54
	IIc	M	43	no	1,5	1,8	65,0	61,5	-	0,581	30,78	81,34	17,11	40,16
	IIId	F	38	no	1,5	1,9	8,7	112,0	-	0,686	35,14	95,22	27,13	58,73
	IIIf	F	48	no	1,0	2,0	12,6	906,1	+	0,638	34,05	80,26	20,69	52,50

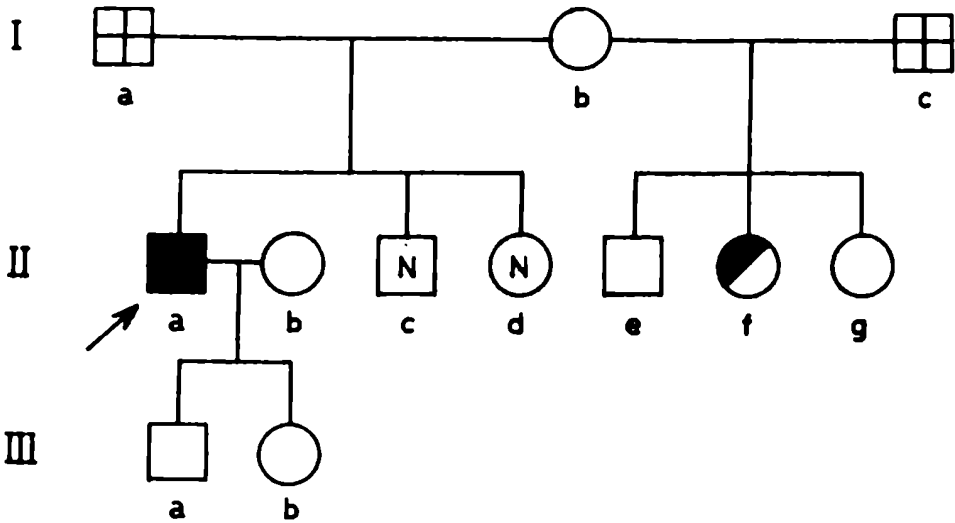


Figura V.4.: *Pedigrée Familia 4*

Tabla V.5.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	O R I N A			HECES	S A N G R E						
					ALA	PBG	Porf.		Porf.	Fluor. Plasma	ALA-D	PBG-usa	Deam.	Bios. Porf.	
														2 h	4 h
5	If	F	36	fr	3,63	2,60	272,9	1.072,5	+	0,615	29,99	79,68	13,93	28,39	
				ni fa	12,60	35,45	1.625,7	1.412,7	+	0,575	ND	ND	ND	ND	

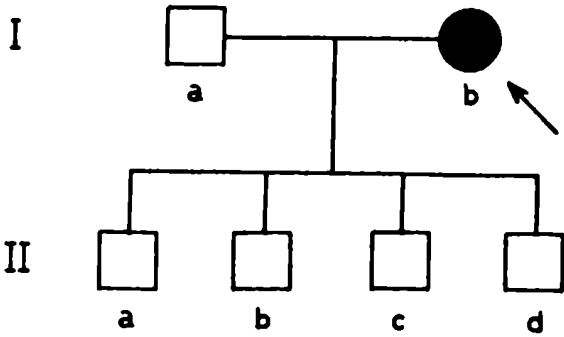


Figura V.5.: *Pedigrée Familia 5*

Los primeros síntomas de porfiria en la paciente fueron de naturaleza cutánea y aparecieron a los 9 años, como vesículas pruriginosas que se desarrollaban principalmente durante las estaciones de primavera y otoño. En abril de 1980 fue diagnosticada como PV, sobre la base de los datos bioquímicos (Tabla V.5.) observándose un alto contenido de porfirinas fecales con un predominio de Proto (49%) respecto de Copro (20%) y una significativa fluorescencia plasmática (47 ng porf/ml).

En 1981, la paciente sufrió un episodio agudo provocado por haberse sometido a una dieta líquida hipocalórica durante dos días. En la internación fue medicada con altas dosis de hidratos de carbono (Brodie y col., 1977), empleando solución dextrosada al 10%, administrada por transfusión lenta vía parenteral a razón de 360 g/día (90 g cada 6 horas). La recuperación clínica fue total.

Es interesante destacar que la madre de la paciente, sufrió durante toda su vida, de síntomas cutáneos y falleció de hipertensión idiopática después de estar 8 años en coma Vigil. El padre vive y es clínicamente sano. De acuerdo con esta información la paciente habría heredado la falla a través de la línea materna.

La paciente de la familia 6 (Tabla V.6. y Figura V.6.) es un caso interesante ya que corresponde a una niña que tiene actualmente 6 años, pero que fue diagnosticada a los 4 años de edad como consecuencia de haber sufrido un ataque agudo de porfiria. Además, se han podido estudiar en forma exhaustiva a 7 familiares consanguíneos de tres generaciones de manera que analizaremos este caso con más detenimiento.

En junio de 1983, la paciente, residente en Jujuy, ingresó al servicio de urgencia con un cuadro agudo y lesiones cutáneas. La niña había recibido una dosis de fenobarbital (5 mg/kg) desde el año y 4 meses a causa de una convulsión febril, asociada a bronquitis espasmódica, el cuadro cedió a los dos años, recién entonces se suspendió la administración de luminaletas. Hasta noviembre de 1982, la paciente no había presentado sintomatología alguna, momento en que se hizo evidente la fragilidad cutánea. En febrero de 1983 se observan orinas oscuras. A principios de junio comenzó con decaimiento progresivo y orinas oscuras, llegando a un estado estuporoso; convulsiones tónico-clónicas que no cedieron con valium y feno-

barbital. Estas convulsiones se repitieron 4-5 veces por lo cual fue trasladada a Buenos Aires, la niña llegó deshidratada, con hiponatremia y poliuria; se observaban asimismo ampollas y manchas hipocrómicas residuales de lesión traumática serosas en dorso de manos. Se la trató con dextrosa 5% (5 g/kg peso) reaccionando favorablemente al cabo de 4 días, trasladándose al poco tiempo a Jujuy completamente recuperada. Desde diciembre de 1983 inició el tratamiento con bicarbonato (3 g/día) y se le ha indicado una terapia de mantenimiento con dieta rica en hidratos de carbono.

Ante el cuadro clínico que presentaba la niña (IIIc) durante la crisis se sospechó de una porfiria aguda por lo cual se llevaron a cabo una serie de estudios en orina, heces y sangre, durante la fase aguda, así como luego de iniciado el tratamiento y en remisión.

De los datos de precursores en orina obtenidos en las condiciones extremas; observamos para la paciente un significativo aumento en la excreción de ALA y PBG durante la crisis que retorna a los niveles normales en remisión, esta respuesta es característica de una PV y una CPH, no ocurre lo mismo con una PAI, ya que aún en remisión la concentración de ALA y PBG está incrementada.

Las porfirinas urinarias están muy elevadas durante la crisis con un patrón no muy diferente al de la PAI, en cambio, la determinación de las porfirinas en heces, revela la típica distribución correspondiente a una PV, con una alta proporción de protoporfirina en materia fecal, de allí que se enfatice que para el correcto diagnóstico de una porfiria aguda, sea e sencial el estudio de las porfirinas en heces.

Los datos de actividades enzimáticas de la paciente (IIIc), muestran los valores esperados incluyendo la fluorescencia del plasma característica para la PV.

Dada la naturaleza hereditaria de esta enfermedad se llevó a cabo entonces un estudio bioquímico completo de siete familiares consanguíneos de la niña, con una absoluta y especial colaboración de los mismos, ya que sólo los padres de la paciente se habían trasladado con ella a Buenos Aires, en tanto que las muestras de los hermanos y abuelos maternos fueron obtenidas y enviadas al Centro en las condiciones indicadas.

Tabla V.6.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	O R I N A			HECES	S A N G R E						
					ALA	PBG	Porf.	Porf.	Fluor. Plasma	ALA-D	PBG-asu	Deam.	URO-D	Bios. Porf.	
														2 h	4 h
6	Ia	M	55	no	1,0	1,1	ND	ND	-	0,477	33	89	0,19	13	27
	Ib	F	55	no	1,1	1,1	47,6	885,5	-	0,673	15	38	0,11	7	11
	IIa	M	36	no	1,8	1,9	18,3	300,0	-	0,547	39	88	0,18	15	32
	IIb	F	30	si fr	1,9	2,9	65,3	563,7	-	0,873	20	52	0,24	7	16
	IIIa	M	1	no	1,5	1,9	8,2	105,4	-	0,665	20	50	0,19	6	13
	IIIb	M	2	no	1,4	1,7	76,1	26,2	-	0,479	21	61	0,18	8	20
	IIIc	F	4	si fr fa	3,2 40,4	3,9 303,5	973,0 12.408,0	2.751,0 10.144,0	+ +	0,501 0,446	36 35	87 91	0,26 ND	13 ND	34 ND
	IIId	F	8	no	1,3	1,5	53,8	105,0	-	0,695	11	30	0,16	4	7

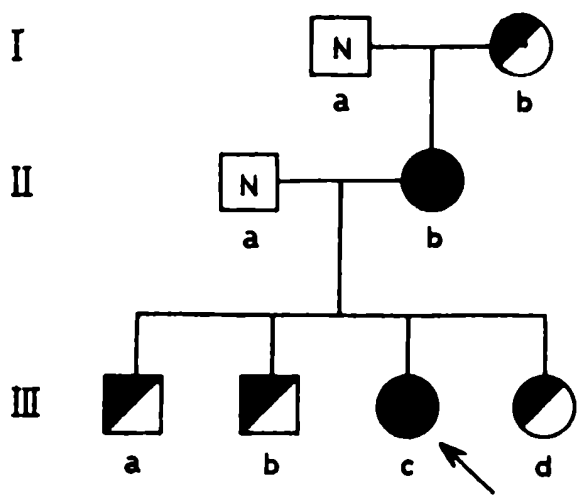


Figura V.6.: *Pedigrée Familia 6*

Según comentarios de la madre de la niña (IIb), que ha referido sufrir de fotosensibilización, tanto ella como la abuela (Ib), han experimentado algunos de los síntomas de una porfiria aguda y aparentemente la hermanita mayor (IIIId) es muy sensible al sol.

Los niveles de ALA, PBG y porfirinas urinarias fueron normales en todos los familiares, no ocurrió lo mismo con las porfirinas fecales, aumentadas en la madre (IIb) y aún más en la abuela materna (Ib) con un patrón muy parecido al de la paciente (IIIc). Es interesante analizar los datos enzimáticos, los valores de ALA-D, están en todos los casos dentro de los límites normales; sin embargo, con respecto a PBG-asa y Deaminasa, si bien tanto la paciente (IIIc), como su padre (IIa) y abuelo (Ia) presentan niveles normales, es notable la disminución observada en la abuela (Ib), la madre (IIb) (datos confirmados por el Dr. Desnick de New York. Comunicación personal a la Dra. Batlle) y los hermanos, especialmente en la primera y la hermana de 8 años, lo cual es de esperar si se tratara de una PAI; estos datos se corroboran con los resultados de la biosíntesis de porfirinas, notablemente reducidos en los mismos casos : Ib, IIb, IIIa, IIb y IIIId.

Cuando comparamos los niveles de la URO-D, ahora solamente la abuela materna (IIb) presenta valores significativamente disminuidos y alrededor de un 25% en la hermana de 8 años (IIIId). Debemos mencionar que tanto en nuestro laboratorio (resultados no publicados) como en el de Goldberg (Brodie y col., 1977) se había observado que en los pacientes con PAI, la actividad de la URO-D se encontraba disminuida.

En conclusión, en base a los resultados obtenidos, podemos afirmar, que además de la paciente (IIIc), su madre (IIb), abuela materna (Ib) y tres hermanos (IIIa, b, d), son portadores de una porfiria aguda, sin embargo a pesar de que la paciente es sin lugar a dudas un claro caso de PV, no podemos ser tan precisos con los demás miembros de su familia quienes podrían constituir casos mixtos. Aunque se trataría de situaciones muy poco frecuentes, existen referencias acerca de la coexistencia de dos formas de porfirias distintas (With, 1983) como PV y PCT, CPH y PV; de manera que en este caso el paciente podría ser portador de los genes para PV y PAI, lo cual es razonable dado que los dos genes son alélicos (With, 1983).

Finalmente, el hecho inusual de tratarse de una PV en una paciente de sólo 4 años de edad, se explica con facilidad, por cuanto la niña pertenece sin lugar a dudas a una familia portadora del gen dominante para la porfiria aguda, y fue sometida durante un prolongado período al tratamiento con fenobarbital, conocido desencadenante de la sintomatología aguda.

En la Figura V.7. se han graficado los parámetros bioquímicos característicos, obtenidos. Observamos que tanto en la fase aguda como en remisión las concentraciones de porfirinas fecales están aumentadas y el contenido de Proto siempre está elevado, mientras que Copro es habitualmente normal. La Figura V.8. muestra que la cromatografía de las porfirinas fecales esterificadas en PV es característica y distinta al de las otras porfirias agudas.

En la Tabla V.7. se han resumido los resultados. Se estudiaron entonces 20 miembros de 6 familias, de los cuales el 60% son porfíricos sintomáticos o latentes y el 40% restante corresponde a sujetos normales. Dentro de los manifestos el 86% pertenecería al sexo femenino y del 25% de casos latentes diagnosticados el 60% corresponde a mujeres.

V.4. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados presentados es importante enfatizar que para poder distinguir la PV entre las otras formas de porfiria aguda es necesario llevar a cabo tanto un análisis del cuadro clínico, como un estudio bioquímico completo. Debemos destacar que durante los episodios agudos se encuentra incrementada la excreción de precursores (ALA y PBG) y porfirinas urinarias; fluorescencia positiva en plasma y fundamentalmente un alto contenido de porfirinas fecales, con un predominio de Proto sobre Copro, pudiendo remitir a valores cercanos a los normales durante la fase de remisión.

Por el hecho de que la PV es una enfermedad hereditaria, es de suma importancia llevar a cabo un estudio del mayor número de familiares consanguíneos posible con el objeto de identificar los probables portadores de la falla genética y prevenir a los mismos de la exposición a los conocidos factores precipitantes, estableciendo así un diagnóstico temprano y un tratamiento adecuado si eventualmente la enfermedad se manifiesta clínicamente.

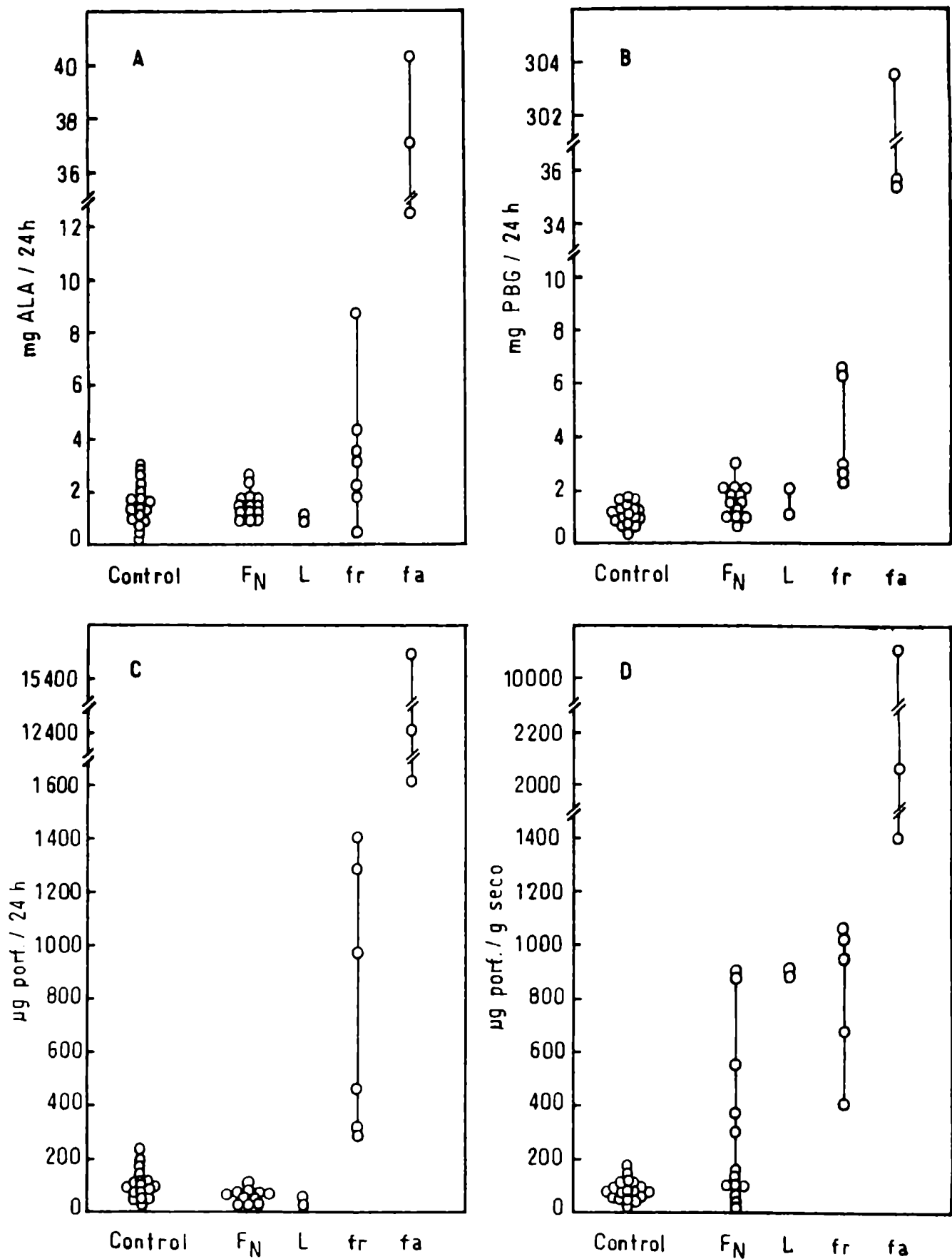


Figura V.7.: Niveles de ALA (A), PBG (B), porfirinas urinarias (C) y fecales (D), de los pacientes con PV durante la fase aguda (fa), en remisión (fr), familiares normales (F_N) y controles (L).

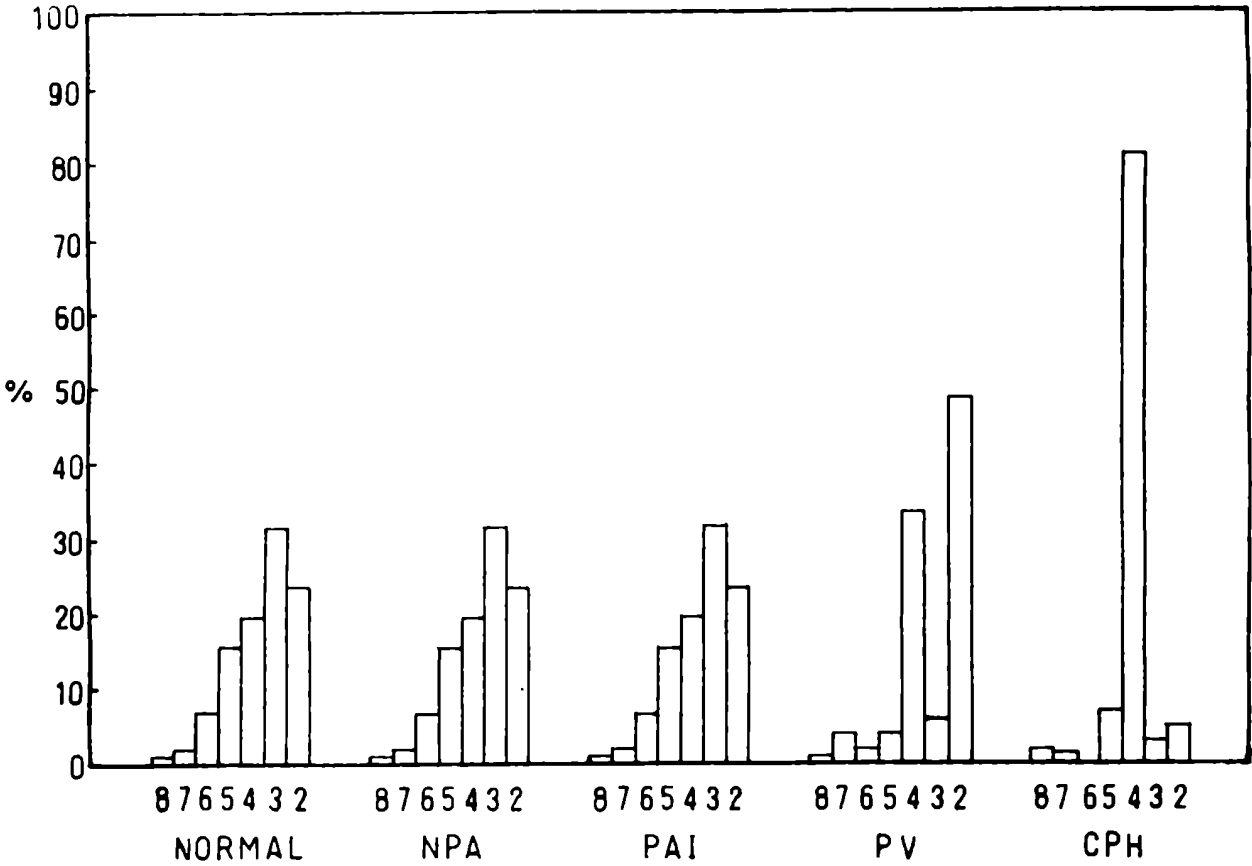


Figura V.8.: Cromatografía de las porfirinas fecales esterificadas en los distintos tipos de porfiria aguda.

Tabla V.7.: Incidencia de la PV sintomática y latente en 6 familias

FAMILIA	GEN	SEXO	NUMERO DE CASOS										PENETRANCIA •
			Estudiados		Normales		Manifiestos		Latentes PV o PA		Niños		
1	2	F	2	3	1	2	1	1	-	-	-	-	0,33
		M	1		1		-		-		-		
2	2	F	1	2	-	1	1	1	-	-	-	-	0,50
		M	1		1		-		-		-		
3	2	F	1	2	-	1	1	1	-	-	-	-	0,50
		M	1		1		-		-		-		
4	1	F	2	4	1	2	-	1	1	1	-	-	0,50
		M	2		1		1		-		-		
	1	F	1	1	-	-	1	1	-	-	-	-	-
		M	-		-		-		-		-		
5	3	F	4	8	-	2	2	2	2	4	2	4	0,75
		M	4		2		-		2		2		
TOTALES		F	11	20	2	8	6	7	3	5	2	4	
		M	9		6		1		2		2		
Σ		F	55	100	25	40	86	35	60	25	50	20	
		M	45		75		14		40		50		

Se expresa la penetrancia del gen como el número de miembros de la familia con PV sintomática o latente dividido por el número total de individuos estudiados de la familia.
PA: Porfiria aguda

V.5. REFERENCIAS

- Brodie, M.; Moore, M.; Thompson, G. & Goldberg, A. Clin. Sci. Molec. Med. 53 (1977) 365.
- Campbell, J. S. Afr. J. Lab. Clin. Med. 9 (1963) 197.
- Dowdle, E.; Mustard, P. & Eales, L. S. Afr. Med. J. 41 (1967) 1093.
- Eales, L. S. Afr. J. Lab. Clin. Med. 6 (1960) 63.
- Eales, L. S. Afr. J. Lab. Clin. Med. 9 (1963) 151.
- Eales, L. S. Afr. J. Lab. Clin. Med. 17 (1971) 120.
- Eales, L.; Dowdle, E. & Sweeney, G. S. Afr. J. Lab. Clin. Med. 9 (1971) 197.
- Kramer, S. Clin. Dermatol. 9 (1980) 303.
- Meyer, V. & Schmid, R. en: "The metabolic basis of inherited disease" (1978) 1166. (Eds. J. Stanbury, J. Wyngaarden y D. Fredrickson) Mc Graw Hill, New York.
- Mustajoki, P. Ann. Int. Med. 89 (1978) 238.
- Mustajoki, P. & Seppalainen, A. Br. Med. J. 2 (1975) 310.
- Van der Bergh, A. & Grotepass, W. Klin. Wochenschr. 50 (1937) 830.
- With, T. Dan. Med. Bull. 30 (1983) 106.

C A P I T U L O VI

LA HERENCIA EN LA COPROPORFIRIA HEREDITARIA

VI. LA HERENCIA EN LA COPROPORFIRIA HEREDITARIA

VI.1. INTRODUCCION

Recordemos que el término CPH fue empleado por primera vez por Berger y Goldberg (1955) a raíz del estudio clínico y bioquímico en un niño suizo con sintomatología aguda y 3 familiares consanguíneos que excretaban grandes cantidades de Copro III en orina y heces. Sin embargo, algunos años antes Dobriner (1936) y Watson y col. (1949) habían hecho referencias acerca de esta enfermedad.

La CPH es una de las formas menos comunes de las porfirias agudas y, como ya vimos, se transmite con carácter autosómico dominante (Goldberg y Rimington, 1967).

En la mayoría de los casos los síntomas clínicos son idénticos a los que se producen en las otras porfirias agudas y los ataques en general se precipitan por las mismas sustancias que provocan las crisis agudas en la PAI y PV (With, 1969). Las lesiones cutáneas no son raras (Nordmann y Grandchamp, 1983).

El diagnóstico de CPH es posible hacerlo mediante la determinación de precursores en orina y principalmente por la calidad y cantidad de porfirinas excretadas en orina y heces (Berger y col., 1955; Haeger-Arönsen y col., 1968; Lomholt y With, 1969; Hunter y col., 1971; Brodie y col., 1977; Doss y col., 1978).

Se ha llevado a cabo un estudio clínico y bioquímico completo en dos familias con CPH. Se presentarán los datos correspondientes a 6 individuos de los cuales 3 son casos sintomáticos, 1 latente y 2 normales.

VI.2. MATERIALES

Se estudiaron tres casos de CPH, dos hombres y una mujer, con la enfermedad clínicamente manifiesta, pertenecientes a dos familias, de las cuales se pudieron estudiar además 2 familiares del sexo masculino y uno del femenino.

También se dispone de las historias clínicas completas

de los pacientes y de uno de los familiares estudiados.

En los pacientes sintomáticos, además de los controles usuales, se efectuaron los siguientes estudios: hemograma, eritrosedimentación, orina y sangre completas y líquido cefalorraquídeo.

VI.3. RESULTADOS Y DISCUSION

Los datos obtenidos de las dos familias se presentan en las Tablas VI.1 a VI.2. y en las correspondientes Figuras VI.1 y VI.2..

En la Familia 1 (Tablas VI.1.y VI.2. y Figura VI.1.), residente en Rosario, además del paciente de 31 años, tenemos otro caso sintomático en el padre. Este último falleció en octubre de 1984 a causa de un paro cardíaco; sin embargo, durante su vida había sufrido de varios ataques débiles con parestias musculares de los miembros, presentando dolores generalizados.

El paciente ha informado que su abuela paterna tenía una sintomatología similar a la suya y a la de su padre.

El paciente presentó su primera crisis en febrero de 1984 que comenzó con dolor en la fosa ilíaca derecha (F.I.D.), a raíz de lo cual fue operado de apendicitis aguda. Si bien es dado de alta a los pocos días, persisten la distensión y el dolor difuso abdominal. Durante el post-operatorio presenta un estado de excitación, calificado de psicótico por lo que es internado en un instituto psiquiátrico. Por presentar diarreas abundantes y mal olientes, fiebre, taquicardia, astenia y orinas oscuras es reinternado en el servicio de urgencias. El paciente llegó con reflejos reprimidos, hipotonía intensa progresiva, impotencia funcional además de hipertensión, hiponatremia, taquipnea con acidosis respiratoria y alcalosis metabólica que indicaban una posible falla mecánica (muscular) de la respiración.

También se le practicó un electro-miograma, cuyos resultados revelaron una polineuropatía. El líquido cefalorraquídeo fue normal.

Tabla VI.1.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	O R I N A			HECES	S A N G R E		
					ALA	PBG	Porf.	Porf.	ALA-D	PBG-asa	Deam.
I	IIa	M	58	fr	3,24	2,46	128,0	1.100	ND	ND	ND
				si							
				fa	2,2	11,0	2.756,9	3.980	0,641	27,01	67,52
	IIc	M	61	no	1,8	0,8	166,5	230	0,620	28,90	72,25
	IIla (pr)	M	31	fr	2,7	4,1	1.190,0	1.665	ND	ND	ND
				fa	8,0	10,0	4.470,0	4.570	0,930	29,80	74,51

ALA y PBG: mg/24 h; Porfirinas urinarias: µg/24 h; Porfirinas
fecales: µg/g seco; ALA-D: nmol PBG/ml GR; PBG-asa y Deami-
nasa: nmol porf/ml GR

Tabla VI.2.: *Patrón de excreción de porfirinas en orina y heces*

		P O R F I R I N A S															
		O R I N A							H E C E S								
		Totales	%						Totales	%							
		µg/24 h	8	7	6	5	4	3	µg/g seco	8	7	6	5	4	3	2	
Familia I HB																	
	fa	2.756,9	13	4	-	21	62	-	3.980	2	2	-	7	81	3	5	
	Ila fr	128,0	8	2	-	-	90	-	1.100	3	2	4	5	70	7	9	
	IIC	166,5	-	-	-	-	100	-	130	3	4	6	7	28	22	30	
	fa	4.470	10	10	5	15	60	-	4.570	4	2	-	8	86	2	4	
	Ila fr	1.190	7	3	-	-	90	-	1.665	3	3	-	4	75	9	6	
PV	fa	12.408	34	6	5	9	42	4	10.144	2	2	3	9	43	12	29	
	fr	973	15	3	3	8	60	11	2.751	1	2	3	8	42	13	31	
PAI	fa	7.753	52	3	2	4	39	-	263	NORMAL							
	fr	878	22	4	4	3	67	-	284								
Normal		20-250	-	-	-	-	100	-	30-130	1	2	7	16	10	40	24	

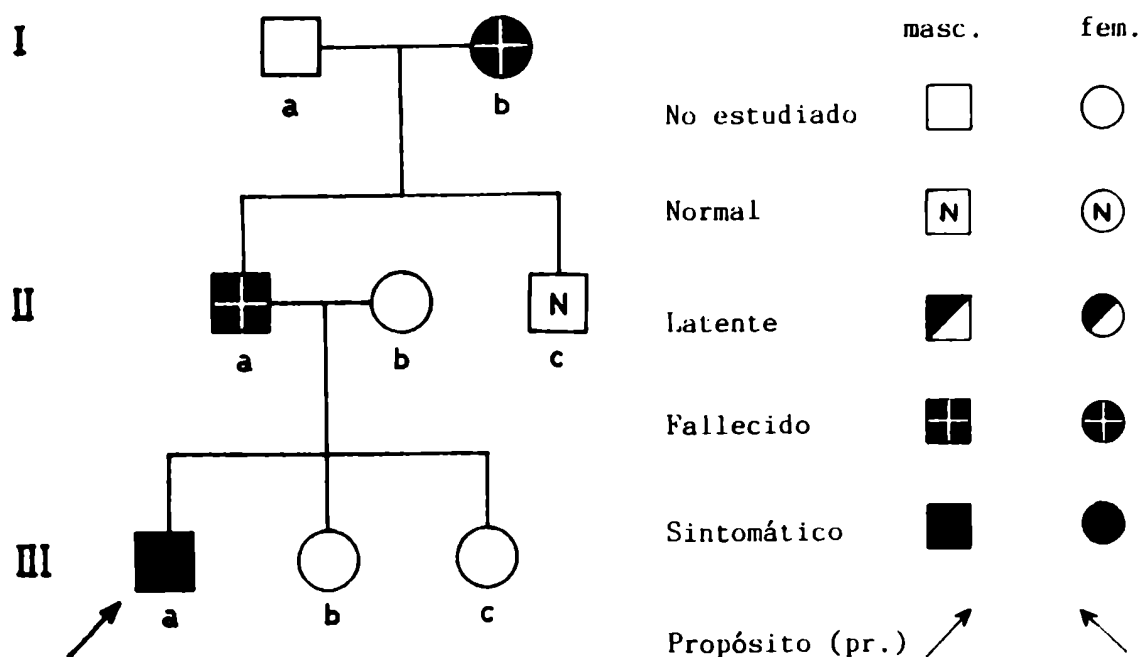


Figura VI.1.: Pedigrée Familia 1

El cuadro presentado por el enfermo, sin sintomatología cutánea, era el típico de una porfiria aguda, por lo que se llevaron a cabo los estudios en orina, heces y sangre durante la fase aguda así como luego de iniciado el tratamiento y en remisión, a dos meses y un año de la primera crisis.

Como podemos observar en las Tablas VI.1. y VI.2., durante la fase aguda sólo el PBG está levemente aumentado, mientras que hay una significativa excreción de porfirinas urinarias constituida principalmente por Copro. La presencia, también de Uro, Firia y Penta durante la crisis indicarían una posible deficiencia de la URO-D, aunque como ya dijimos, parte de la Uro presente puede provenir de una síntesis no enzimática a partir del exceso de PBG.

La concentración significativamente alta de porfirinas fecales, con un patrón que mostró la presencia destacada de Copro, con Proto normal, permite descartar una Porfiria Varié-gata, y definir al paciente como portador sintomático de CPH. La típica constelación de porfirinas urinarias y principalmente fecales (Tabla VI.2.) corresponden sin lugar a dudas a una CPH, de allí que se enfatice que para el correcto diagnóstico

de una porfiria aguda sea esencial el estudio de las porfirinas fecales (With, 1983).

En cuanto a las enzimas, la actividad del ALA-D, como se observa en la Tabla VI.1. se halla dentro del rango normal, descartándose cualquier asociación con una intoxicación por plomo. Las actividades de PBG-asa y Deaminasa presentaron valores dentro del rango de los controles, lo que elimina una PAI.

En base a estos datos se procedió inmediatamente al tratamiento del ataque de la porfiria aguda, basado en la administración intravenosa de una solución glucosada al 10% en forma continua (Brodie y col., 1977).

Después de dos semanas se suspendió la terapia, ya que la recuperación clínica fue total y se le dió de alta con la indicación de mantener una dieta hipercalórica y evitar fármacos porfirinogénicos, el alcohol y el stress. Cumpliendo con estas indicaciones sencillas, el paciente está en la actualidad, completamente recuperado y desarrolla una vida normal.

En base a estos resultados se pudo establecer que ha sido el padre el transmisor del desorden y que éste a su vez lo heredó de su madre (Figura VI.1.).

Los primeros síntomas de la paciente de la Familia 2 (Tablas VI.3. y VI.4. y Figura VI.2.) aparecieron en febrero de 1984 como fuertes dolores abdominales y orinas oscuras. Como consecuencia de ello se le practicó apendicectomía, persistiendo la enferma con fiebre y dolor en F.I.D. Por esta razón es reingresada al servicio de urgencia, presentando hiponatremia, hipocalemia y cuadriparesia, con líquido cefalorraquídeo normal. Inmediatamente se inició el tratamiento con dextrosa al 10% experimentando una completa mejoría al poco tiempo; dándosele de alta en marzo del mismo año. Se le indicó una terapia de mantenimiento con dieta rica en hidratos de carbono.

Es interesante destacar que la paciente, sin sintomatología cutánea, sufría de trastornos psiquiátricos desde muy joven, e intentó suicidarse en dos ocasiones por ingestión de psicofármacos.

Tabla VI.3.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	O R I N A			H E C E S		S A N G R E		
					ALA	PBG	Porf.	Porf.		ALA-D	PBG-asa	Deam.
2	Ib	F	38	no	1,8	0,7	72	490		0,466	24,65	61,63
	IIa	M	20	no	2,0	1,1	2	130		0,452	21,10	52,96
	IIc	F	21	si fr fa	1,4 14,0	2,4 28,2	250 3.129	1.717 5.056		ND 0,466	35,23 33,33	88,09 83,41

Tabla VI.4.: *Patrón de excreción de porfirinas en orina y heces*

		P O R F I R I N A S													
		O R I N A						H E C E S							
		Totales	%					Totales	%						
		µg/24 h	8	7	6	5	4	µg/g seco	8	7	6	5	4	3	2
Familia 2 MG															
	Ib	72	-	-	-	-	100	490	1	1	17	13	51	3	14
	IIa	2	-	-	-	-	100	130	2	2	10	11	28	17	30
IIc	fa	3.129	2	2	1	35	60	5.056	2	2	1	32	55	3	5
	fr	250	19	5	-	5	71	1.717	1	1	1	5	75	12	5

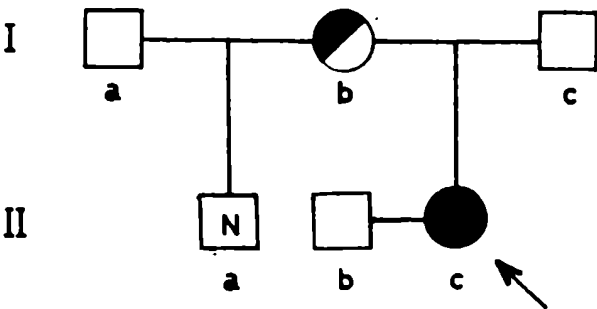


Figura VI.2.: *Pedigrée Familia 2*

La presencia de precursores urinarios, el contenido y patrón de porfirinas urinarias y fecales, con predominio de Copro en ambos fluidos (Tabla VI.3.) señaló sin lugar a dudas el diagnóstico de CPH.

De los estudios enzimáticos se encontró que fueron normales los niveles de PBG-asa y Deaminasa. Sin embargo fueron significativamente bajos los niveles de ALA-D aún para los familiares (Ib, IIa y IIc), quienes presentan una sintomatología clínica compatible con el saturnismo, aunque la plumbemia no fue patológica para ninguno de ellos, pues el contenido de Pb para Ib, IIa y IIc fue 9, 10 y 9 $\mu\text{g}\%$ respectivamente. Estos resultados estarían de acuerdo con Doss y col. (1982) y Batlle y col. (1985) quienes proponen que en los pacientes con porfiria hereditaria está aumentado el riesgo a la intoxicación por Pb (I-Pb). Es decir que pueden desarrollar los síntomas clínicos aún cuando los niveles de plumbemia no sean realmente patológicos. Cabe destacar que del interrogatorio surgió que toda la familia estuvo expuesta a dicho metal.

IV.4. RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se han estudiado a tres pacientes, pertenecientes a dos familias de CPH, en fase aguda y en remisión.

Desde el punto de vista bioquímico se encontraron en los tres casos, niveles elevados de ALA y PBG urinarios durante las crisis, que se normalizaban alcanzada la remisión. Las porfirinas urinarias y fecales, también aumentadas en la fase aguda, evolucionaron hacia niveles normales y fueron importantes los patrones de excreción urinaria y fecal, que mostraron concentraciones elevadas de Copro en ambos casos, lo que permitió distinguir claramente la CPH de las otras porfirias agudas.

Recordemos una vez más, que siendo la CPH una porfiria hereditaria, es importante realizar un estudio completo del mayor número posible de familiares consanguíneos para poder identificar los casos latentes.

VI.5. REFERENCIAS

- Batlle, A.; Parera, V.; Stella, A. & Wider, E. IV Congreso Inter. de Toxicología (1985) 38.
- Berger, H. & Goldberg, A. Br. Med. J. 2 (1955) 85.
- Brodie, H.; Thompson, G.; Moore, M.; Beattie, A. & Goldberg, A. Quart. J. Med., New Series, XLVI (1977) 229.
- Dobriner, K. Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.) 35 (1936) 175.
- Doss, M.; Becker, U.; Sixel, F.; Geisse, S.; Solcher, H. & Schneider, J. Klin. Wochenschr. 60 (1982) 599.
- Doss, M.; Tiepermann, R. & Verspohl, F. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 16 (1978) 519.
- Goldberg, A.; Rimington, C. & Lochhead, A. Lancet i (1967) 632.
- Haeger-Arönsen, B.; Stathers, G. & Swahn, G. Ann. Intern. Med. 69 (1968) 221.
- Hunter, J.; Khan, S.; Hope, E.; Beattie, A.; Beveridge, G.; Smith, A. & Goldberg, A. Br. J. Derm. 84 (1971) 301.
- Lomholt, J. & With, T. Acta Med. Scand. 186 (1969) 83.
- Nordmann, Y. & Grandchamp, B. Endocrinología clínica y metabolismo 5 (1983) 58.
- Watson, C.; Schwartz, S.; Schulze, W.; Jacobson, L. & Zagaría, R. J. Clin. Invest. 28 (1949) 465.
- With, T. Acta Med. Scand. 186 (1969) 117.
- With, T. Danish. Med. Bull. 30 (1983) 106.

· C A P I T U L O V I I

LA HERENCIA EN LA PORFIRIA CUTANEA TARDA

VII. LA HERENCIA EN LA PORFIRIA CUTANEA TARDA

VII.1. INTRODUCCION

Hasta hace relativamente pocos años, se consideraba que la PCT era una enfermedad adquirida, debido, entre varias razones, a su manifestación en adultos mayores de cuarenta años; su frecuente asociación con la ingestión de alcohol, así como con algunos otros factores tales como los estrógenos, hidrocarburos halogenados y el hierro; por otro lado, no se contaba comúnmente con una historia familiar de los pacientes con PCT.

Es un hecho que la mayoría de las porfirias son consecuencia de una falla de origen genético y durante largo tiempo se había sospechado que también en la PCT debía existir una contribución hereditaria (Waldenström y Haeger-Arönsen, 1963, 1967; Perrot y Thivolet, 1970; Mc Ewin, 1973; Dehlin y col., 1973; Prato y col., 1974; Topi y D'alessandro, 1977; Cruces Prado y col., 1980).

La característica excreción de grandes cantidades de porfirinas altamente carboxiladas, en los casos de PCT, sugería que la enzima responsable de la decarboxilación de sus correspondientes porfirinógenos, es decir, la URO-D, debía estar inhibida o tal vez ser deficiente en estos individuos. Esta hipótesis fue confirmada recientemente, demostrándose que la actividad de esta enzima se encontraba significativamente reducida en tejido hepático y eritrocitos de pacientes con PCT, así como también en algunos de sus familiares clínicamente asintomáticos (Perrot y Thivolet, 1970; Doss y col., 1971; Kushner y col., 1975, 1976; Benedetto y col., 1978; Felsher y col., 1978; Elder y col., 1978; de Verneuil y col., 1978; Doss y col., 1980; Elder y col., 1980; Lerh y Doss, 1981; Afonso y col., 1985). Este defecto enzimático parece heredarse, según un carácter autosómico dominante, pero de baja penetrancia. Sin embargo, a pesar de que la determinación de los niveles de URO-D eritrocitaria en pacientes y sus familiares puede llevarnos a una clara distinción entre las formas hereditarias y adquiridas de PCT (Batlle y col., 1979 a; Magnin y col., 1980; Stella y col., 1982; Alleman y col., 1982), la técnica no es siempre conveniente y adaptable a estudios de rutina.

na; además, en algunos casos se han obtenido resultados contradictorios (Blekkenhorst y col., 1976; Elder y col., 1980) no todos los pacientes con una historia familiar de PCT tienen disminuída la URO-D de eritrocitos. Se ha señalado que el estudio de los perfiles de excreción de porfirinas urinarios (Doss y col., 1971; Magnin y col., 1980), fecales (Elder y col., 1975) y plasmáticos (Moore, 1973), pueden proveer información acerca de los defectos enzimáticos específicos para cada porfiria y aportar datos para demostrar su transmisión genética (Doss y Schermuly, 1976), sin embargo, sabemos que esta información no es suficiente, razón por la cual es necesario hacer uso además, de algunos otros criterios.

Dehlin y col. (1973) han investigado familiares directos de pacientes con PCT sintomática mediante el examen al microscopio por fluorescencia de biopsias de hígado; si bien, obviamente, ésta tampoco es una técnica conveniente para estudios de rutina.

Varios autores han demostrado que la investigación sistemática de las porfirinas excretadas por orina, usando métodos simples, tales como la cromatografía en capa delgada (TLC), constituye una técnica valiosa y útil que permite detectar las menores anomalías en pacientes con PCT tanto clínicamente sintomática como asintomática (Doss y col., 1971; With, 1975, 1976; Piñol Aguadé y col., 1975; Wider de Xifra y col., 1979; Magnin y col., 1980; Strik y col., 1980; Enriquez de Salamanca y col., 1980; Magnin y col., 1981).

Por otro lado, también se ha observado que se puede obtener importante información tanto acerca del defecto enzimático primario, como del carácter hereditario, en muchos casos de porfiria; llevando a cabo estudios de biosíntesis de porfirinas, *in vitro*, a partir de los precursores ácido δ -aminolevulico (ALA) o porfobilinógeno (PBG) empleando eritrocitos (Doss, 1973; Schermuly y Doss, 1976; Viljoen y col., 1976; Miyagi y col., 1976; Batlle y col., 1979 a y b; Parera y col., 1980; Magnin y col., 1981).

Con el objeto de obtener mayor evidencia experimental acerca de la existencia de un mecanismo hereditario en la PCT confirmando datos previos (Magnin y col., 1981 y referencias allí citadas), hemos extendido nuestro trabajo, realizando una

investigación clínica y bioquímica completa en 27 familias de pacientes con PCT sintomática; los estudios químicos incluyen determinaciones de precursores y porfirinas en orina, heces y sangre, así como biosíntesis de porfirinas *in vitro* por eritrocitos, a partir de ALA.

VII.2. MATERIALES Y METODOS

Se ha definido un índice urinario como la relación $\frac{U}{C} \times 100$, calculado dividiendo la cantidad total de porfirinas libres presentes en la fracción U por la cantidad total de porfirinas libres presentes en la fracción C y multiplicando por 100. Los valores normales para el índice urinario se encuentran entre 10 y 20 (n=97).

Se ha definido un índice fecal como la relación $\frac{U}{C + P} \times 100$, calculado dividiendo el porcentaje de porfirinas totales esterificadas en la fracción U por la suma de los porcentajes de todas las porfirinas esterificadas presentes en la fracción C + P. La fracción U incluye porfirinas de 8, 7 y 6-COOH, en tanto que la fracción C + P contiene Coproporfirina, Isocoproporfirina, pequeñas cantidades de una porfirina tri-carboxílica y Protoporfirina. Los valores normales para el índice fecal oscilan entre 1 y 3 (n = 67).

- Precusores: en las muestras de orina también se midieron ALA y PBG según se indica en Materiales y Métodos.
- Biosíntesis de porfirinas: Se llevaron a cabo estudios de biosíntesis de porfirinas *in vitro* a partir de ALA (Capítulo II). El tiempo de incubación fue de 2 horas. Se ha definido un índice biosintético relativo como la relación $(\%U_I + \%U_{III} / \%C) \times 100$, calculado multiplicando por 100 la suma de los porcentajes de Uroporfirinas I y III (U_I y U_{III}) y dividiendo luego por el porcentaje de Coproporfirina (C). El valor normal para el índice biosintético relativo se encuentra alrededor de 250 ± 80 .

VII.3. RESULTADOS Y DISCUSION

VII.3.1. Criterios

Para establecer el diagnóstico de PCT se adoptaron los siguientes criterios:

- i) La presencia del síndrome clínico, fragilidad cutánea y aparición de ampollas en las áreas de la piel expuestas al sol, ocasionalmente hipertrichosis e hiper o hipopigmentación, más raramente esclerodermia.
- ii) Excreción aumentada de porfirinas urinarias, particularmente octa y heptacarboxílicas, con un índice $\frac{U}{C} \times 100$ significativamente aumentado en los casos de PCT, y un patrón anormal característico de los ésteres metílicos de las porfirinas urinarias en TLC.
- iii) Análisis de los ésteres metílicos de las porfirinas en heces por TLC, y del índice fecal $\frac{U}{C + P} \times 100$, que también puede estar aumentado en PCT.
- iv) Investigación de la biosíntesis de porfirinas *in vitro*, por eritrocitos, a partir de ALA exógeno y análisis del índice biosintético relativo $(\%U_I + \%U_{III} / \%C) \times 100$; ambos parámetros están siempre significativamente aumentados en PCT, reflejando un defecto enzimático a nivel de la URO-D.

VII.3.2. Tipos de PCT

Empleando el primero de estos criterios y la medición de la actividad enzimática de la URO-D de eritrocitos, Benedetto y col. (1978) han clasificado la PCT en tres tipos: sintomática, subclínica y latente. Aplicando nuestros criterios nosotros hemos podido identificar los mismos tipos de PCT (Cuadro VII.1.).

En el tipo SINTOMATICO está presente el síndrome clínico, acompañado de porfirinuria y un patrón característico para la PCT de las porfirinas urinarias, es decir con predominio de porfirinas de 8 y 7-COOH. La excreción fecal de porfirinas no está demasiado aumentada, los niveles de Copro y Protoporfiri-

na suelen encontrarse dentro de valores normales, pero pueden apreciarse además otras porfirinas más carboxiladas, en particular con 8 y 7-COOH. Los índices urinario y fecal están aumentados.

Cuadro VII.1.: Tipos de PCT

TIPOS DE PCT	SINDROME CLINICO	ANORMALIDAD BIOQUIMICA				
		O R I N A			HECES	BIOSINTESIS
		Porfirinuria	Patrón en TLC característico	$\frac{U}{C} \times 100$	$\frac{U}{C + P} \times 100$	$\frac{\%U_I + \%U_{III}}{\%C} \times 100$
Sintomática	+	↑	+	↑	↑	↑
Subclínica	-	normal o ↑	+	↑	normal o ↑	↑
Latente		normal	-	-	normal o ↑	↑

En el tipo SUBCLINICO, están ausentes los signos clínicos, y aunque la excreción urinaria de porfirinas puede o no estar aumentada, el patrón en TLC es el típico para la PCT, el correspondiente índice urinario está aumentado, mientras que el índice fecal puede o no estarlo.

Por último, el tipo LATENTE incluye aquellos individuos en los cuales jamás se ha presentado ningún síntoma clínico, el patrón urinario en TLC y el correspondiente índice son normales, en tanto que el índice fecal puede o no estar elevado.

En los tres tipos de PCT, la biosíntesis de porfirinas *in vitro* por eritrocitos está aumentada y el índice biosintético relativo es significativamente mayor que el normal; lo cual está de acuerdo con una actividad reducida de la URO-D.

VII.3.3. Datos bioquímicos

Tanto en los pacientes con PCT como en todos sus familiares los valores de excreción urinaria de ALA y PBG se encontraron dentro del rango normal, al igual que la concentración de Protoporfirina libre en eritrocitos.

En algunos de los pacientes con PCT se analizó el contenido de porfirinas en biopsias hepáticas, éstas mostraban una típica fluorescencia roja, y gran cantidad de porfirinas con predominio de las altamente carboxiladas. No se obtuvieron biopsias de ninguno de los familiares de estos pacientes.

Como ya hemos señalado, Benedetto y col. (1978) han observado que mediante la determinación de la actividad de la URO-D en eritrocitos, es posible detectar numerosos casos de PCT clínica y aparentemente bioquímicamente asintomáticos, los denominados tipos latentes de PCT. Por otro lado nosotros hemos encontrado que la biosíntesis de porfirinas *in vitro*, por eritrocitos, a partir de ALA, es un procedimiento simple que también permite revelar el defecto metabólico enzimático (Batlle y col., 1979 b; Parera y col., 1980; Magnin y col., 1981); de manera que, incluyendo este último criterio, se llevó a cabo una investigación bioquímica completa en 27 familias, en general con muy buena cooperación por parte de pacientes y familiares.

Para cada familia se ilustran: en una Tabla los parámetros bioquímicos que nos han permitido clasificarla dentro del grupo hereditario o no hereditario. Además, en la parte A de la Figura se muestra el patrón cuali y cuantitativo de las porfirinas esterificadas urinarias en TLC; en la parte B, se grafican los índices urinario, fecal y biosintético y finalmente en la parte C, en base a todos los datos se arma el pedigrée correspondiente a esa familia.

Con el objeto de ordenar el estudio de todos los datos obtenidos se han separado las 27 familias en dos grandes grupos.

El primer gran grupo abarca las familias 1 a 17 (ordenadas alfabéticamente), para las cuales los resultados se presentan en las Tablas VII.1. a 17. y en las correspondientes Figuras VII.1. a 17.

Si analizamos cuidadosamente los datos de laboratorio para estas 17 familias, resulta evidente que en estos 17 casos de PCT sintomática, la enfermedad ha sido adquirida, por cuanto: i) el síndrome clínico solamente se encontró presente en el propósito y ninguno de los 48 familiares estudiados jamás desarrolló alguno de los síntomas de una PCT; ii) la excreción urinaria de porfirinas, el correspondiente patrón en TLC y el índice fue normal en todos los familiares; iii) el índice fecal también fue normal en todos los familiares; iv) la biosíntesis de porfirinas a partir de ALA y su correspondiente índice estaban significativamente aumentados sólo en los pacientes con PCT sintomática, pero fueron normales en todos los familiares.

El segundo grupo abarca 10 familias (numeradas del 18 al 27) que a los efectos de la discusión se dividió en 4 subgrupos.

En la Tabla y Figura VII.18., se muestran los datos de una familia en la cual, a pesar de sólo haberse podido analizar tres miembros, dos de ellos, hermanos (GB IIa y GV IIc), eran casos de PCT sintomática, el único familiar investigado (IIIa) fue normal. Esta familia es un ejemplo de PCT hereditaria en la cual dos miembros de la misma, tienen la enfermedad clínicamente manifiesta.

En las Tablas y Figuras VII.19. a 22., de los veinte individuos analizados, cuatro de ellos son los pacientes con PCT sintomática (CM IIc; FB Ia; ZS Ia y MM Ia); otros diez presentan el tipo subclínico (CM IIa, IIId, IVc; FB IIb, IIIa, IIIb; ZS IIa y MM IIa, IIb y IIc) y los seis miembros restantes, de dos de las familias, fueron normales. Estas cuatro familias constituyen un ejemplo de PCT hereditaria en el cual los familiares tienen la enfermedad subclínica.

En las Tablas y Figuras VII. 23 a 25. podemos ver datos interesantes de otras tres familias, en éstas, la PCT es sintomática en los pacientes (JRC Ib; SD Ia y LJ IIa) y latente en cuatro familiares (JRC IIa, IIc; SD IIb y LJ IIc). Otros tres miembros estudiados fueron normales. Hasta ahora, estos han sido los primeros casos en la literatura en los cuales la PCT hereditaria se ha detectado en familiares que sólo exhiben una PCT latente; si hubiéramos empleado únicamente el criterio

clínico y el estudio de las porfirinas urinarias, las habría mos clasificado, erróneamente, dentro del primer grupo de las PCT no hereditarias o adquiridas.

Finalmente, en las Tablas y Figuras VII.26 y 27., se muestra un subgrupo complejo de dos familias con PCT hereditaria. La PCT fue sintomática en los pacientes (CJ IIc y CMI Ia). Se diagnosticó PCT subclínica en tres miembros (CJ IIa, IIb y CMI IIa) y PCT latente en otros tres (CJ IIIa, IIIb y CMI IIb).

VII.4. CONCLUSIONES

Empleando entonces los datos clínicos, el análisis cuantitativo, la TLC e índice de las porfirinas urinarias y fecales, y estudios de biosíntesis de porfirinas *in vitro* a partir de ALA, por eritrocitos, tanto en pacientes con PCT como en sus familiares en 27 familias, ha sido posible identificar pacientes con tres tipos de PCT: sintomática, subclínica y latente (Tabla VII.28); clasificando a 17 familias dentro del grupo de la PCT no hereditaria y otras 20 dentro del grupo de la PCT hereditaria.

Entre los 107 individuos examinados, los 28 casos de PCT sintomática presentaron, además de los síntomas clínicos, porfirinuria con un correspondiente y típico patrón de TLC, y una biosíntesis de porfirinas por eritrocitos significativamente aumentada.

En las primeras 17 familias, excepto el propósito ningún otro miembro reveló alguna anormalidad clínica ni bioquímica, indicando que en estos casos la PCT fue sin dudas una enfermedad adquirida. La Figura VII.28. resume el pedigrée de estas 17 familias.

De las 10 familias restantes, en una de ellas, dos de sus miembros padecían PCT sintomática. En seis familias se identificaron catorce miembros con PCT subclínica, que no mostraban signos clínicos, las porfirinas en orina eran normales o aumentadas pero el patrón de excreción por TLC era el típico para la PCT, y el índice biosintético estaba incrementado. En cinco familias se detectaron otros siete familiares con PCT latente, sin síntomas clínicos, tanto los niveles de por-

firinas urinarias como sus correspondientes patrones por TLC eran normales, pero la biosíntesis de porfirinas por eritrocitos fue muy elevada. De manera que en un total de 10 familias se demostró que la PCT era una enfermedad genética. La Figura VII.29. resume el pedigrée de estas 10 familias, agrupadas en cuatro sub-tipos diferentes.

Estos resultados se suman a las evidencias que apoyan la hipótesis de la existencia de dos formas de PCT, adquirida y hereditaria. Al mismo tiempo, enfatizan la importancia de la necesidad de llevar a cabo una completa investigación clínica y bioquímica de los pacientes y todos sus familiares, con el objeto de determinar si existe o no una transmisión genética del desorden.

Tabla VII.1.1.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales $\mu\text{g}/24\text{ h}$	Indice (iu)	Porf.totales $\mu\text{g/g}\cdot\text{seco}$	Indice (if)		
1 BG	Ia (pr.)	M	46	si	2.606	243	183	18	2.500	Sintomática
	IIa	M	12	no	28	22	126	5	217	-
	IIb	F	7	no	18	10	99	1,5	226	-
	IIc	F	9	no	6	10	46	1	278	-

pr. = *propósito*
iu = *índice uninario*; if = *índice fecal*; ib = *índice biosintético*. En el texto se explica la forma de obtener cada uno de los índices

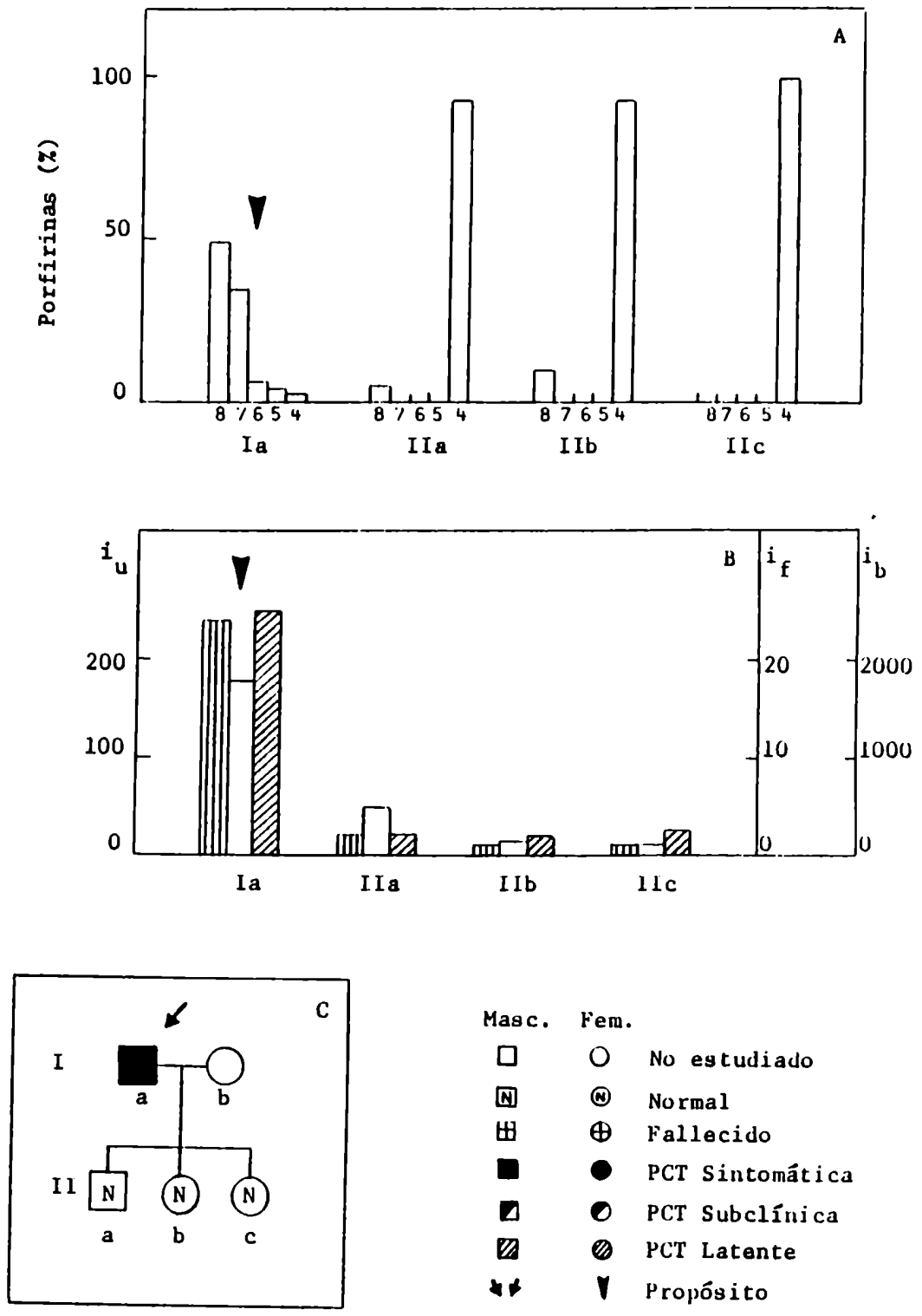


Figura VII.1.: A: Patrón de porfirinas urinarias esterificadas analizadas por cromatografía en capa delgada. B: Índices urinario (i_u) (▨▨▨), fecal (i_f) (□) y biosintético (i_b) (▨▨). C: Pedigrée Familia 1. Los grafismos y leyenda aquí descritos son igualmente aplicables a las Figuras VII.2. a 27.

Tabla VII.2.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales μ g/24 h	Indice (iu)	Porf.totales μ g/g seco	Indice (if)		
2 BF	Ila(pr.)	M	57	si	2.276	989	363	4,0	600	Sintomática
	I Ib	M	30	no	50	12	259	1	200	-
	I Ic	F	26	no	30	12	132	1	210	-

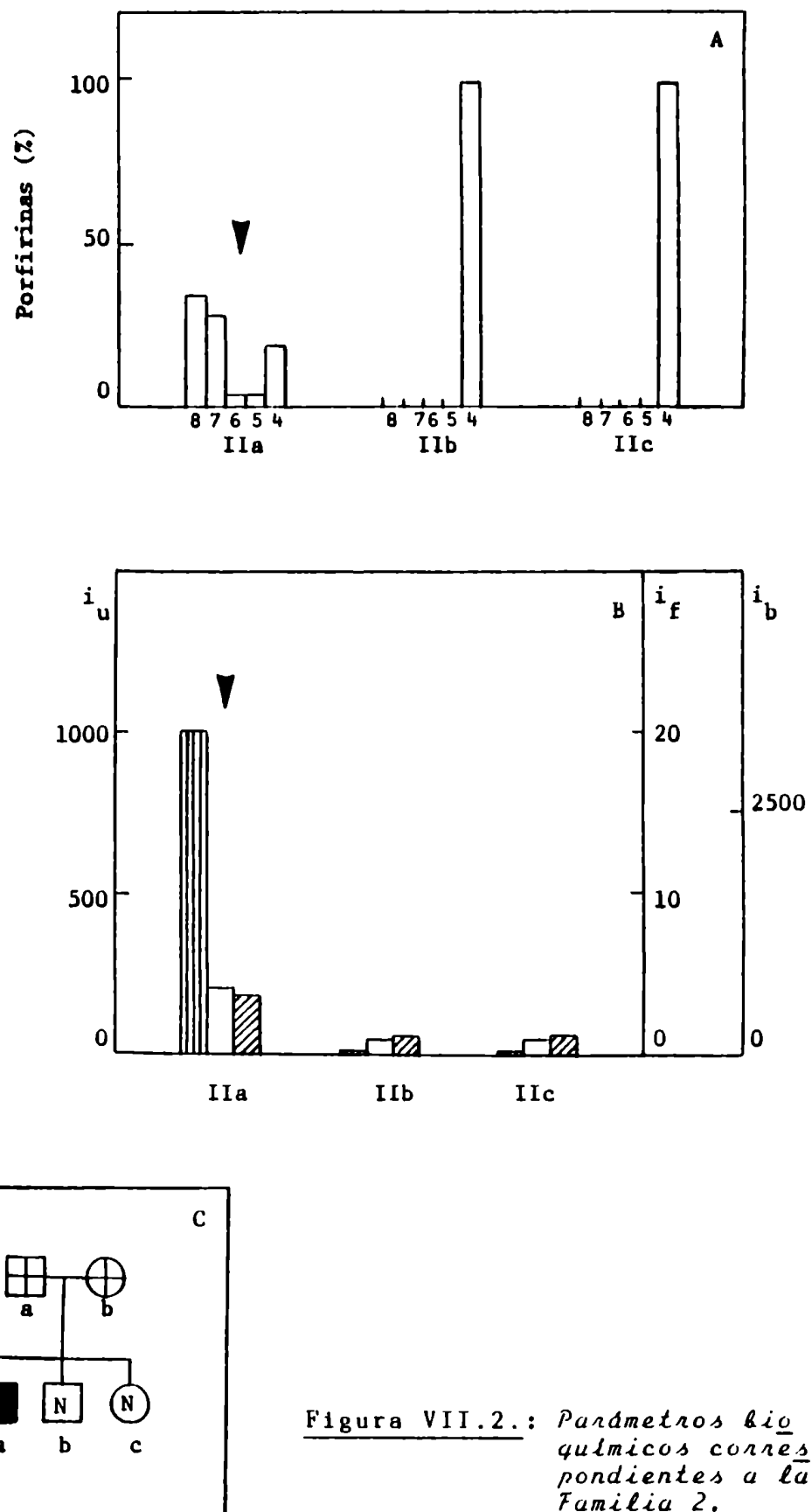


Figura VII.2.: Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 2.

Tabla VII.3.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales $\mu\text{g}/24\text{ h}$	Indice (iu)	Porf.totales $\mu\text{g}/\text{g seco}$	Indice (if)		
3 GA	Ia (pr.)	M	70	si	4.966	799	923	5,0	3.100	Sintomática
	IIa	M	41	no	9	12	114	4,9	270	-
	IIb	M	38	no	21	15	57	1,9	270	-

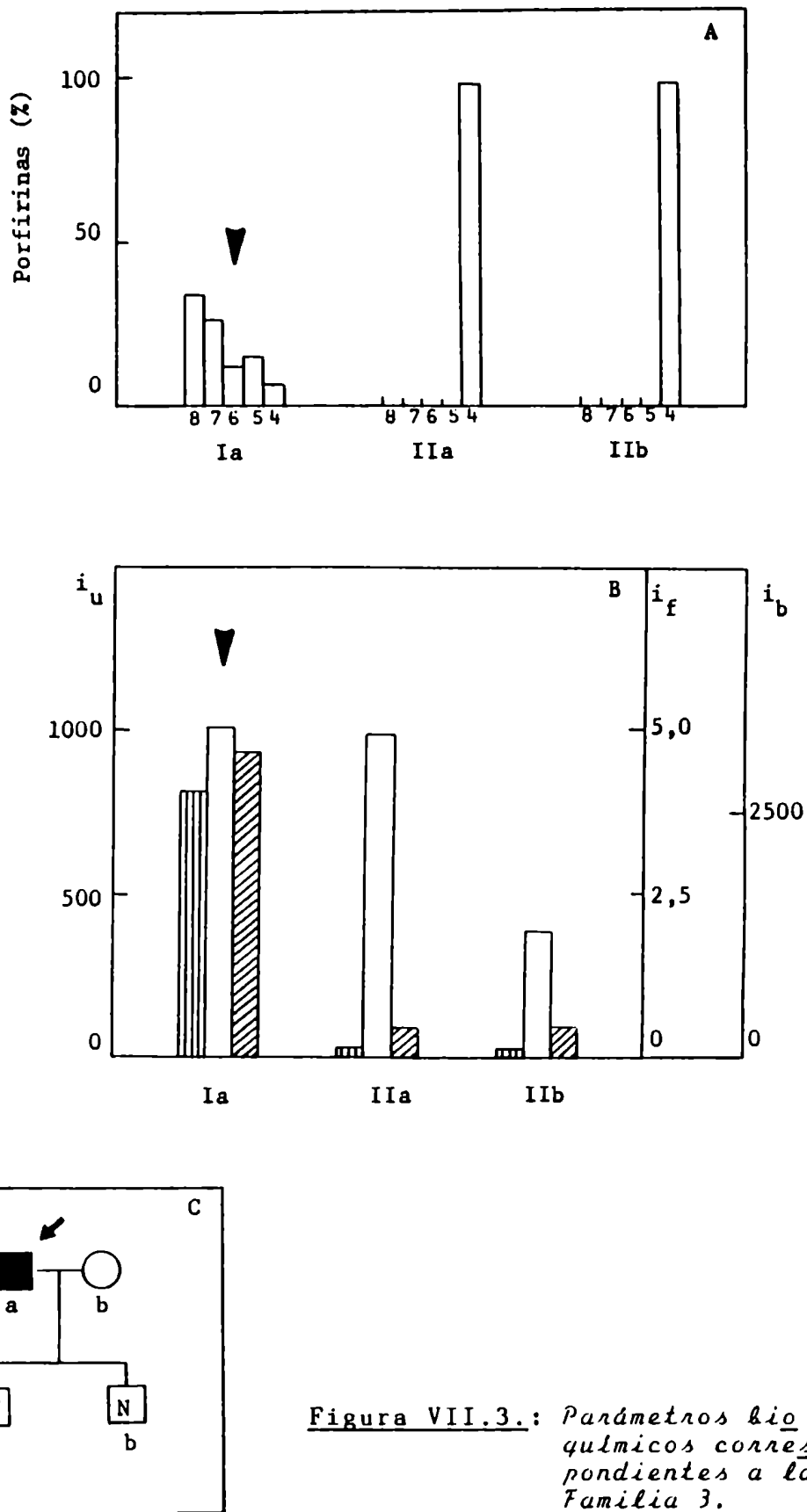


Figura VII.3.: *Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 3.*

Tabla VII.4.: *Pundmetnos bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales $\mu\text{g}/24\text{ h}$	Indice (iu)	Porf.totales $\mu\text{g}/\text{g seco}$	Indice (if)		
4 HP	Ia (pr.)	M	46	si	1.471	1.090	596	5,3	4.500	Sintomática
	Ib	F	38	no	41	20	93	2,5	250	-
	IIa	M	13	no	17	10	93	4,5	270	-
	IIb	M	15	no	53	16	66	2,0	250	-
	IIc	F	1	no	40	10	61	1,1	260	-
	IId	F	11	no	6	15	36	2,9	270	-

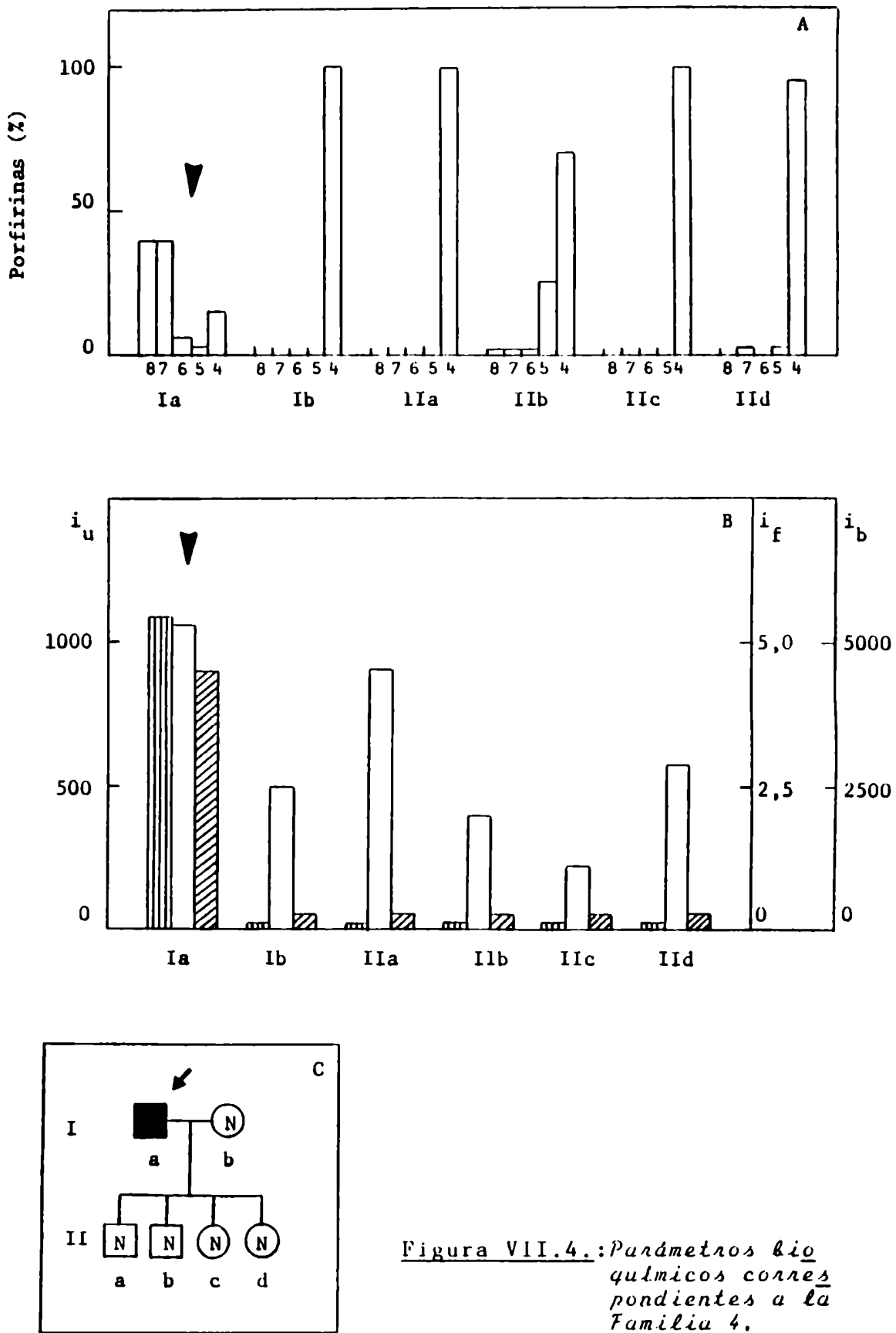


Tabla VII.5.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales µg/24 h	Indice (iu)	Porf.totales µg/g seco	Indice (if)		
5 NL	Ia (pr.)	M	57	si	1.243	1.812	278	7	5.500	Sintomática
	IIa	M	26	no	18	17	146	1	320	-
	IIb	F	28	no	52	15	162	1	323	-
	IIc	F	30	no	10	18	129	4	385	-
	IId	F	33	no	6	12	89	2	118	-

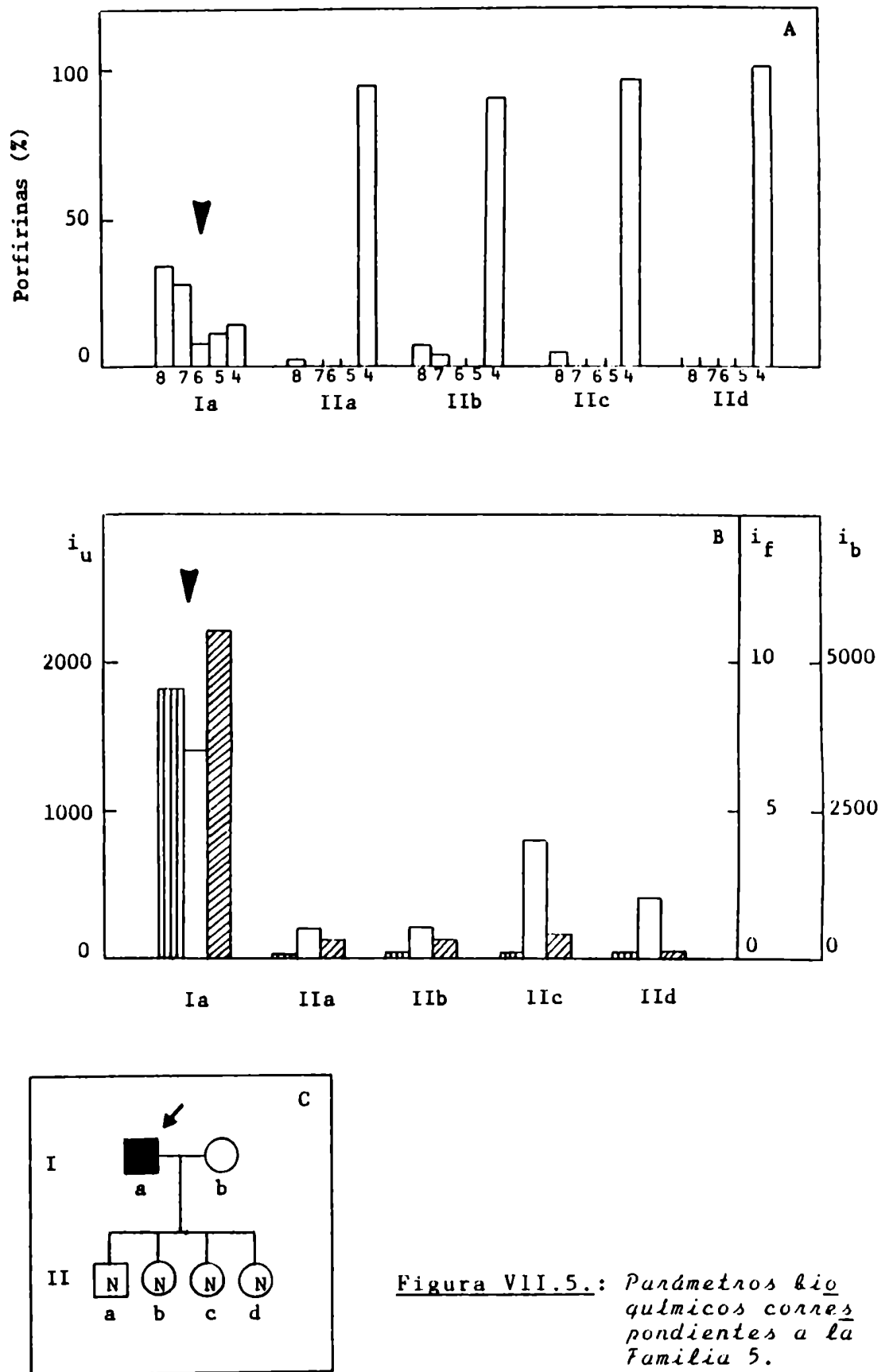


Figura VII.5.: *Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 5.*

Tabla VII.6.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales $\mu\text{g}/24\text{ h}$	Indice (iu)	Porf.totales $\mu\text{g}/\text{gseco}$	Indice (if)		
6 MJ	Ia (pr.)	M	50	si	2.449	1.275	256	15,9	788	Sintomática
	IIa	F	18	no	50	23	110	5,3	270	-
	IIb	F	29	no	30	25	44	1,1	270	-

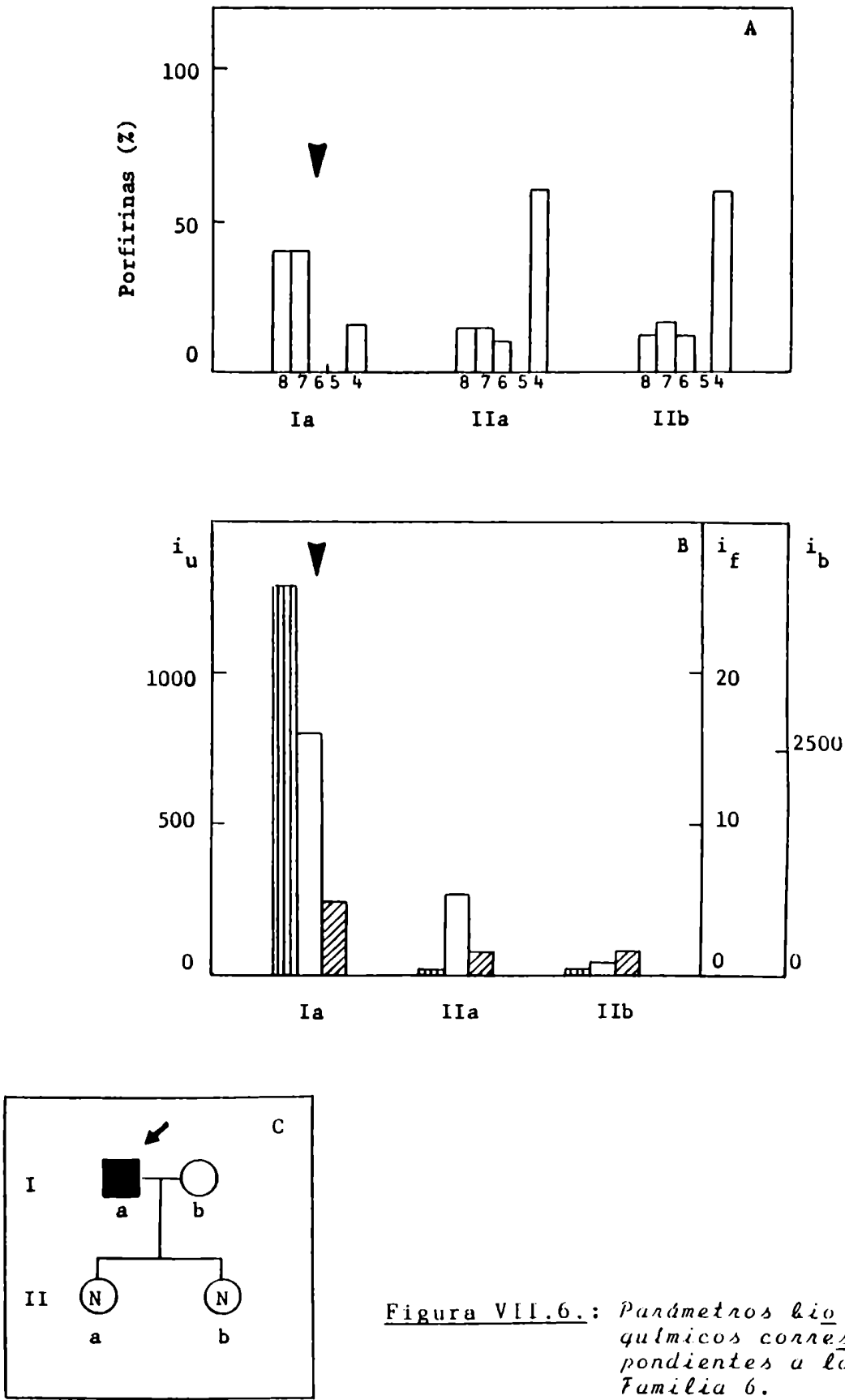


Figura VII.6.: *Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 6.*

Tabla VII.7.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales µg/24 h	Indice (iu)	Porf.totales µg/g seco	Indice (if)		
7 MF	Ia	M	80	no	29	15	44	2	180	-
	IIa (pr.)	M	22	si	7.157	380	427	15	3.400	Sintomática
	IIIa	M	1	no	10	15	2	1	250	-

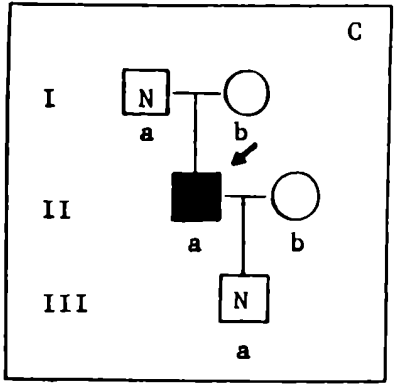
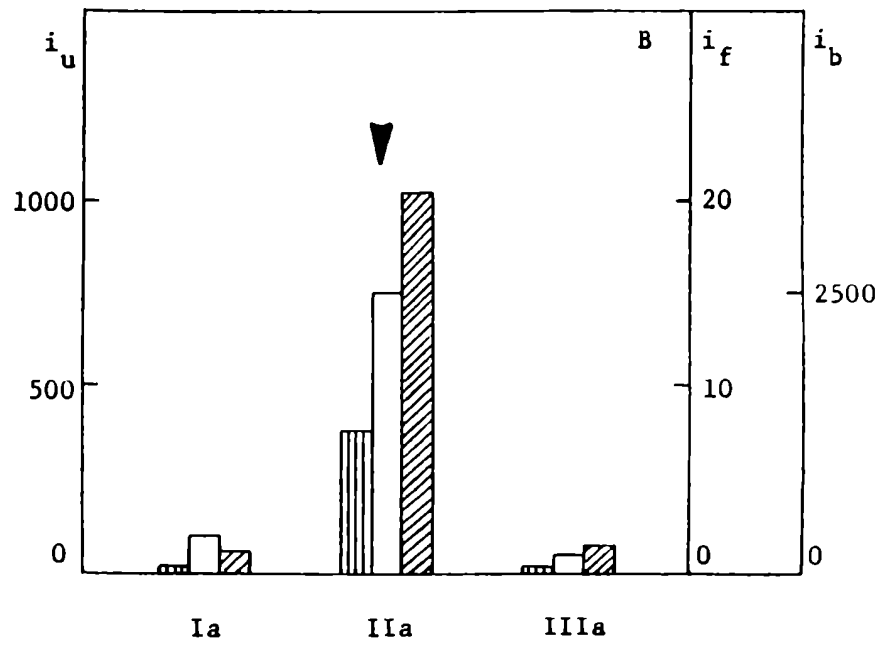
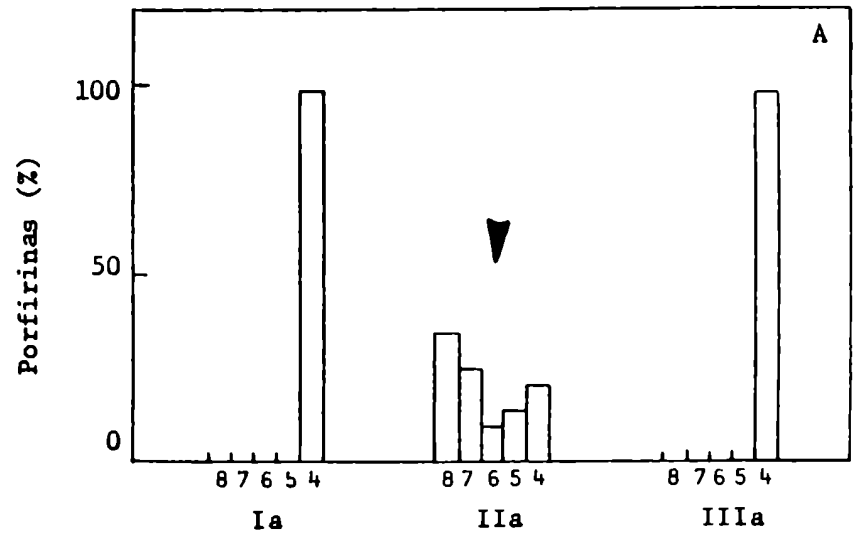


Figura VII.7.: Parámetros biológicos correspondientes a la Familia 7.

Tabla VII.8.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales µg/24 h	Indice (iu)	Porf.totales µg/gseco	Indice (if)		
8 PJ	Ia (pr.)	M	60	si	2.032	1.666	221	8,4	1.000	Sintomática
	IIa	M	27	no	7	15	63	3,5	280	-
	IIb	M	28	no	13	16	126	2,0	190	-
	IIc	F	12	no	10	17	299	4,0	320	-
	IId	F	17	no	21	16	79	1,0	180	-
	IIe	F	21	no	22	14	140	2,0	290	-
	IIIf	F	23	no	20	10	76	1,0	350	-
	IIg	F	25	no	18	17	108	4,3	210	-

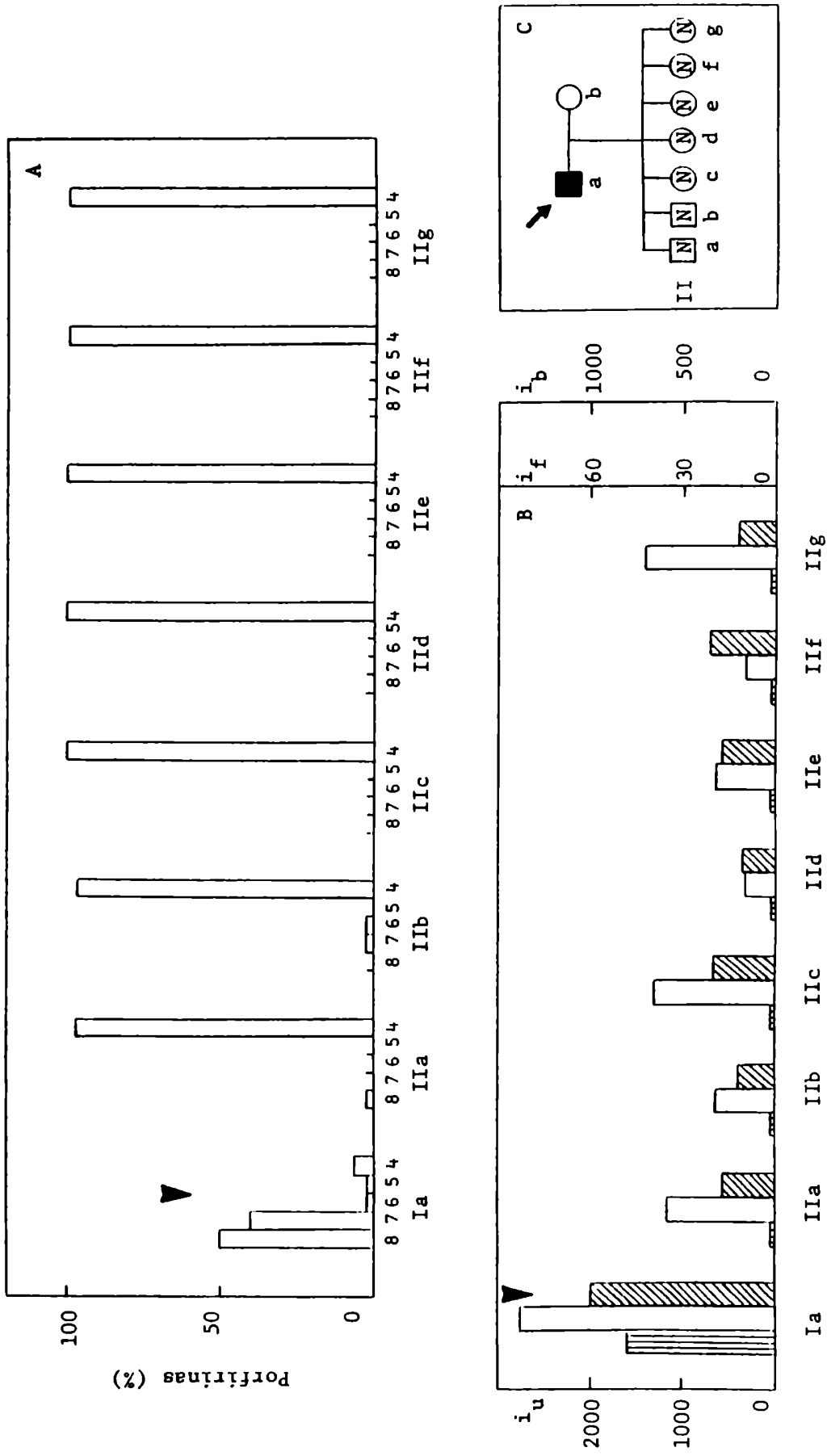


Figura VII.8.: Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 8.

Tabla VII.9.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales $\mu\text{g}/24\text{ h}$	Indice (iu)	Porf.totales $\mu\text{g/g seco}$	Indice (if)		
9 PO	Ia (pr.)	M	32	si	4.727	1.718	766	6,0	6.800	Sintomática
	IIa	F	4	no	32	15	125	2,4	180	-
	IIb	F	6	no	12	10	162	2,0	230	-
	IIc	F	8	no	11	12	205	2,3	260	-

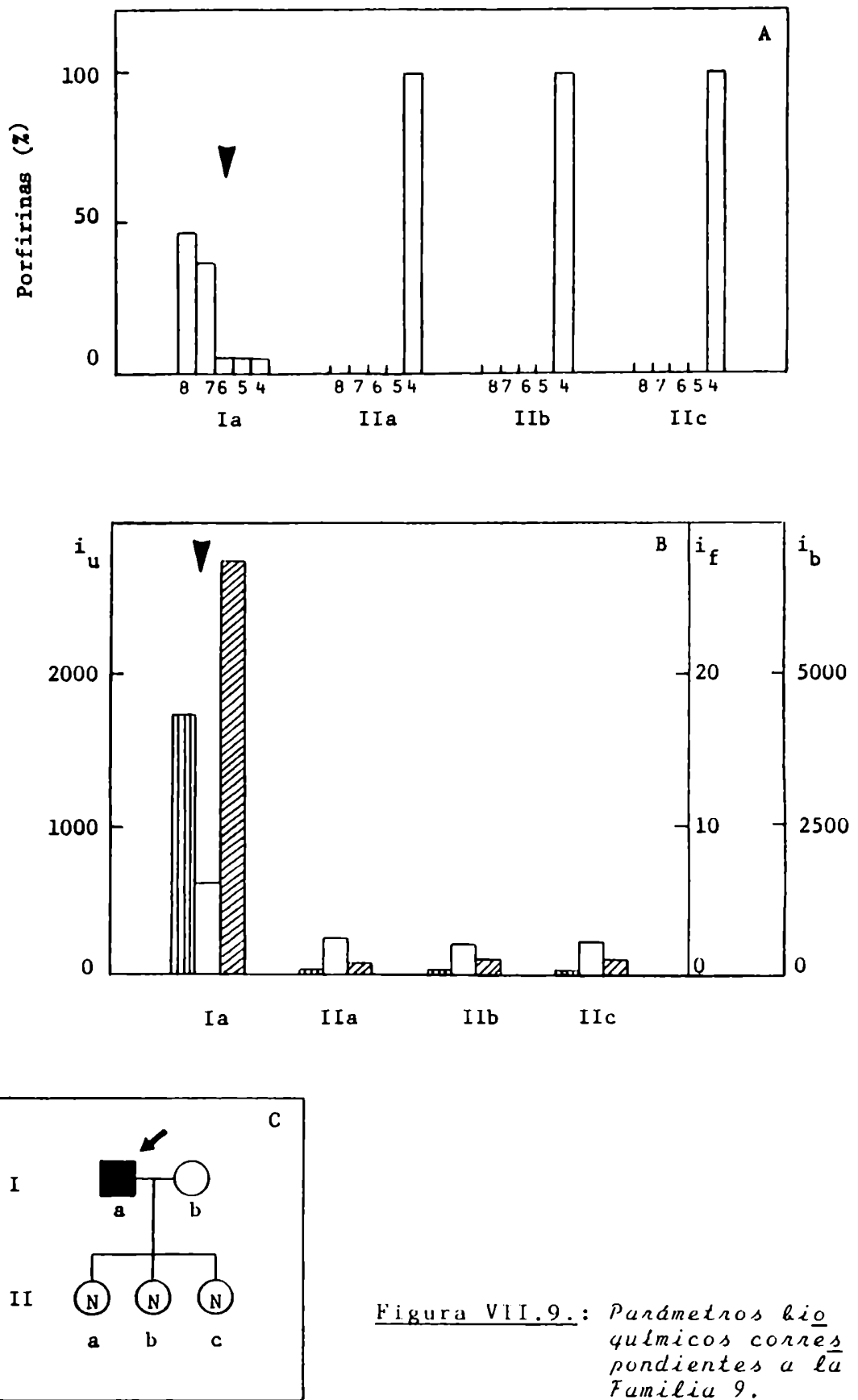


Figura VII.9.: *Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 9.*

Tabla VII.10.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales $\mu\text{g}/24\text{ h}$	Indice (iu)	Porf.totales $\mu\text{g}/\text{g seco}$	Indice (if)		
10 PA	Ia (pr.)	M	61	si	3.996	1.717	655	13	3.400	Sintomática
	IIa	M	28	no	150	60	85	2	250	-

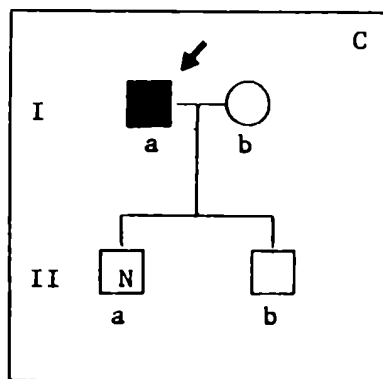
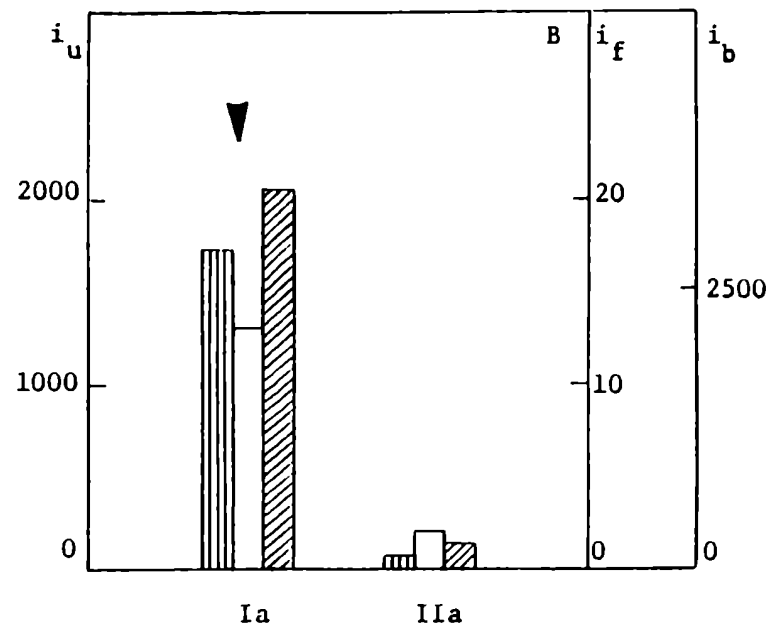
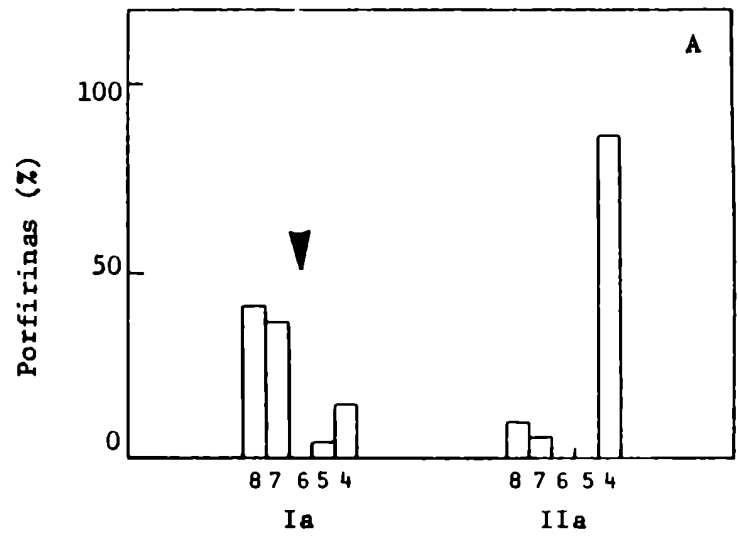


Figura VII.10.: Parámetros bioquímicos correspondientes a la familia 10.

Tabla VII.11.1.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales µg/24 h	Indice (iu)	Porf.totales µg/g.seco	Indice (if)		
11 RJM	Ib (pr.)	F	39	si	686	206	528	10,9	1.500	Sintomática
	IIa	M	14	no	17	15	255	1,1	230	-
	IIb	M	20	no	10	17	44	1,2	300	-
	IIc	F	17	no	9	16	105	2,0	220	-

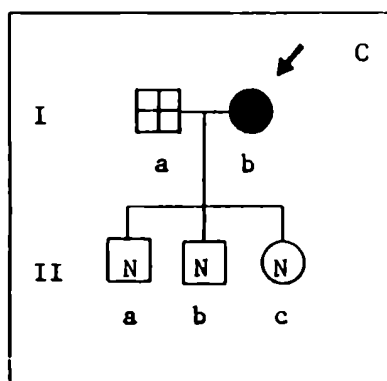
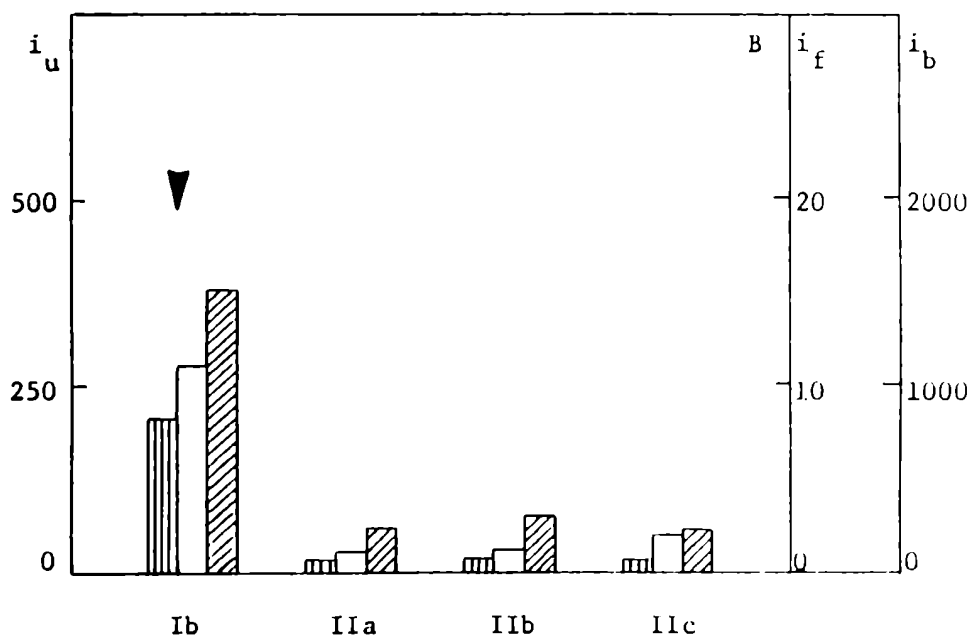
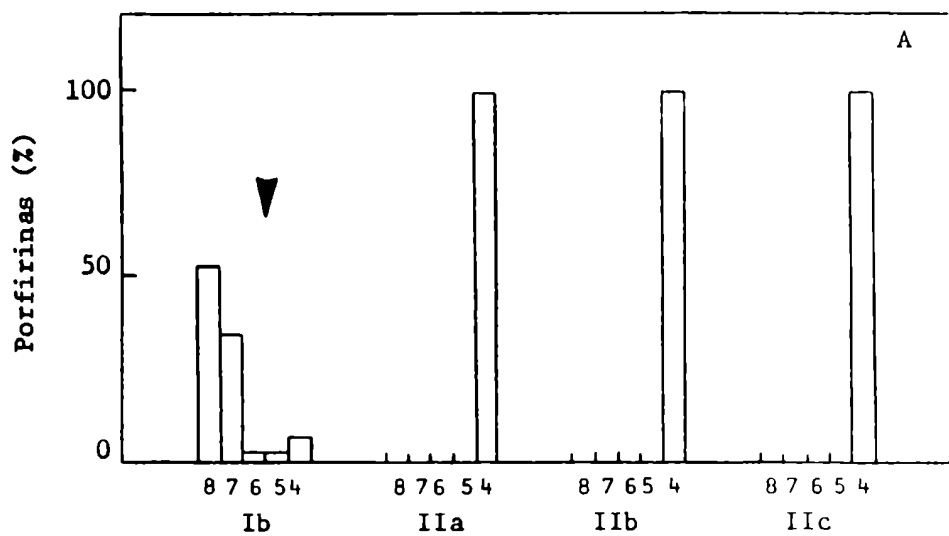


Figura VII.11.: *Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 11.*

Tabla VII.12.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales µg/24 h	Indice (iu)	Porf.totales µg/g seco	Indice (if)		
12 RM	Ia (pr.)	M	54	si	4.357	487	472	12	3.400	Sintomática
	Ib	F	46	no	10	29	129	5	175	-
	IIa	M	11	no	27	15	114	4	145	-
	IIb	F	6	no	20	25	179	2	160	-
	IIc	F	9	no	37	10	185	3	180	-

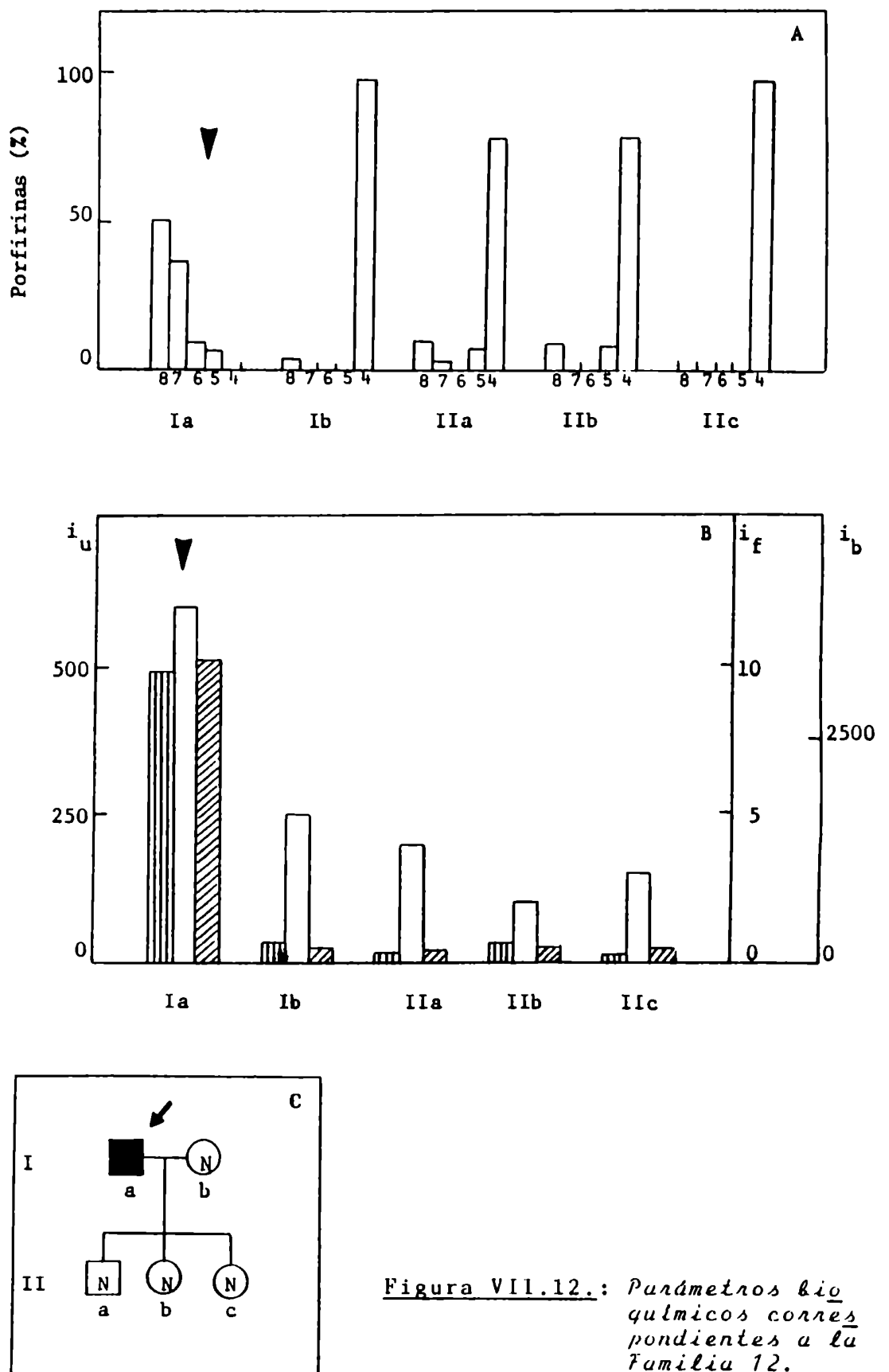


Tabla VI1.13.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales µg/24 h	Indice (iu)	Porf.totales µg/g seco	Indice (if)		
13 SM	Ia (pr.)	M	44	si	2.009	1.200	250	4	6.500	Sintomática
	IIa	F	13	no	129	12	130	2	240	-
	IIb	F	14	no	57	17	150	2	270	-

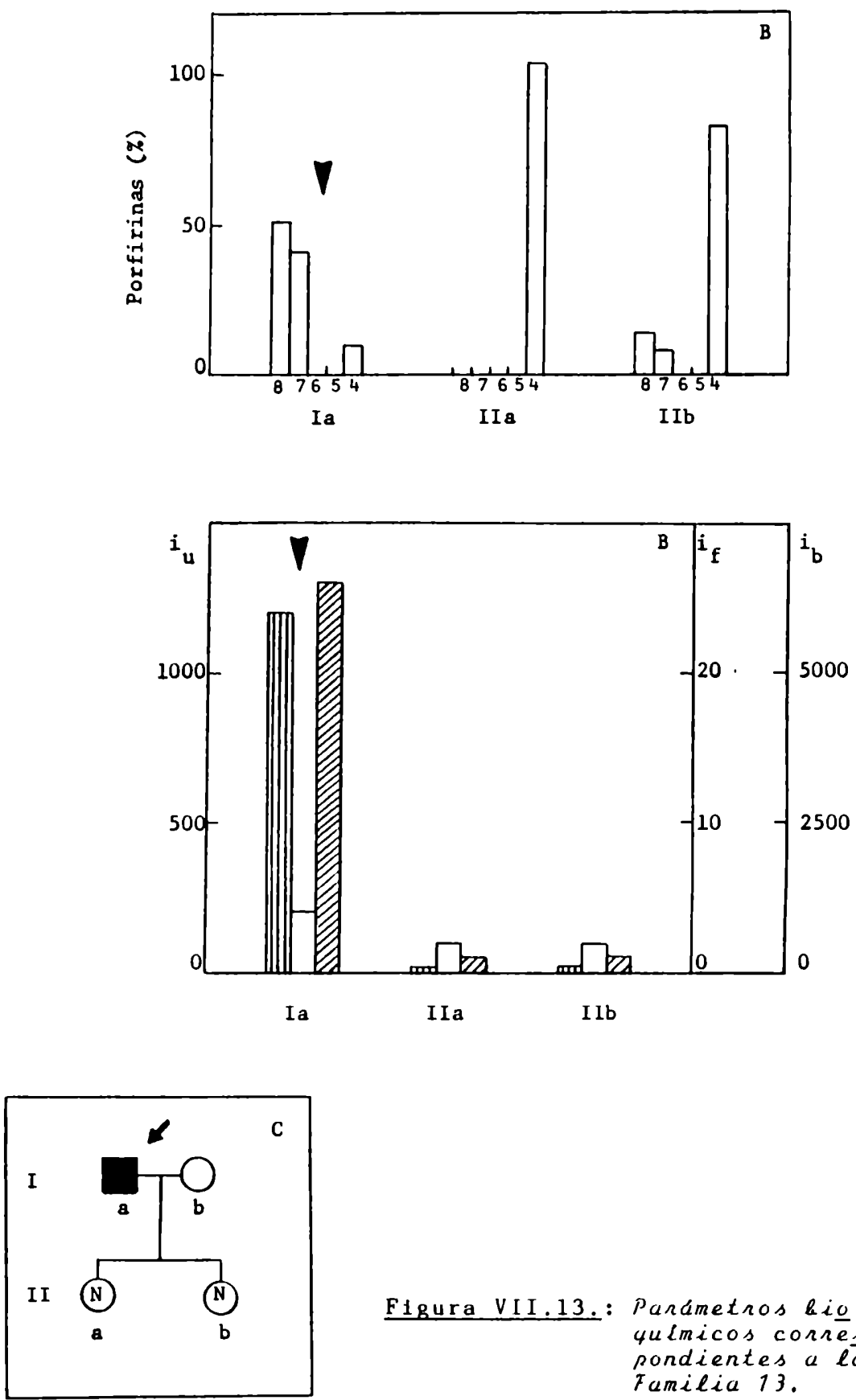


Tabla V.14.: Parámetros bioquímicos

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales ug/24 h	Indice (iu)	Porf.totales ug/g seco	Indice (if)		
14 TM	Ia (pr.)	M	54	si	3.197	862	473	7	1.575	Sintomática
	IIa	M	16	no	19	15	132	2	230	-
	IIb	F	18	no	20	11	181	2,1	250	-
	IIc	F	19	no	10	5	174	2	180	-

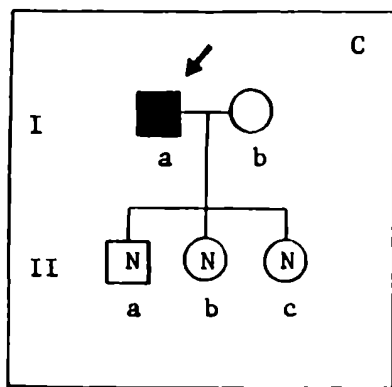
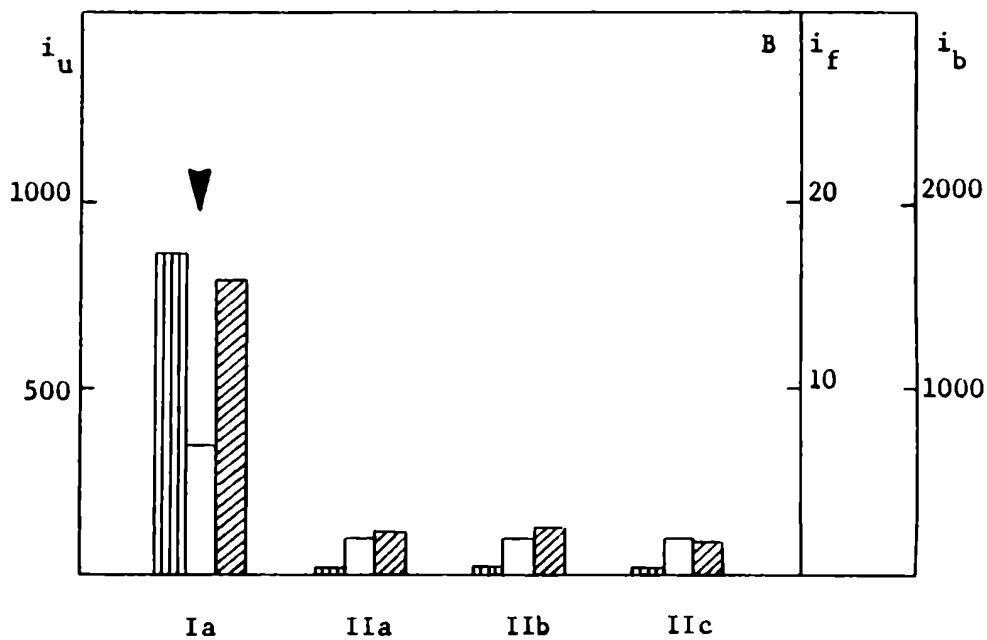
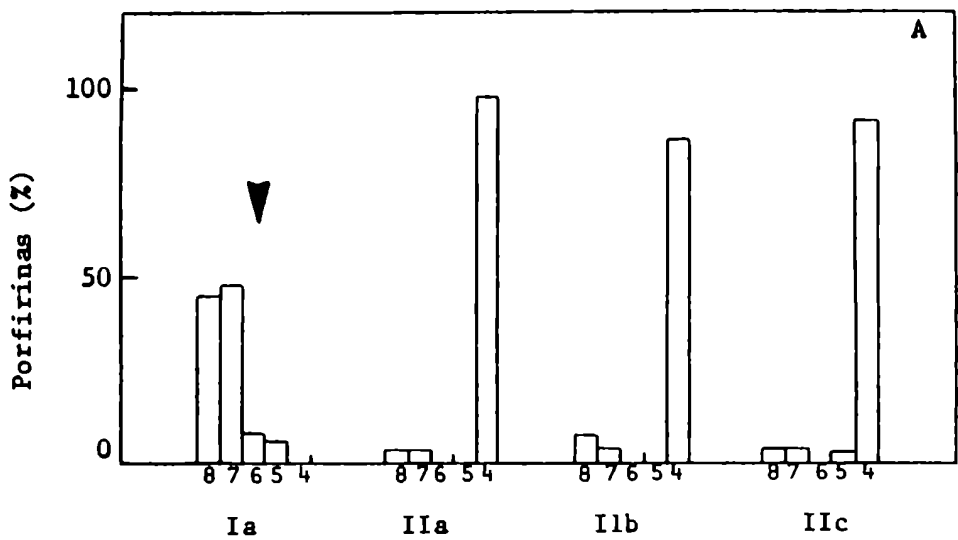


Figura VII.14.: *Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 14.*

Tabla VII.15.: *Punómetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales $\mu\text{g}/24\text{ h}$	Indice (iu)	Porf.totales $\mu\text{g}/\text{g seco}$	Indice (if)		
15 TJ	Ia (pr.)	M	60	si	1.538	520	214	38,0	2.333	Sintomática
	IIa	F	17	no	38	17	182	1,1	310	-
	IIb	F	21	no	10	12	138	6,0	280	-
	IIc	F	25	no	12	10	146	3,3	260	-

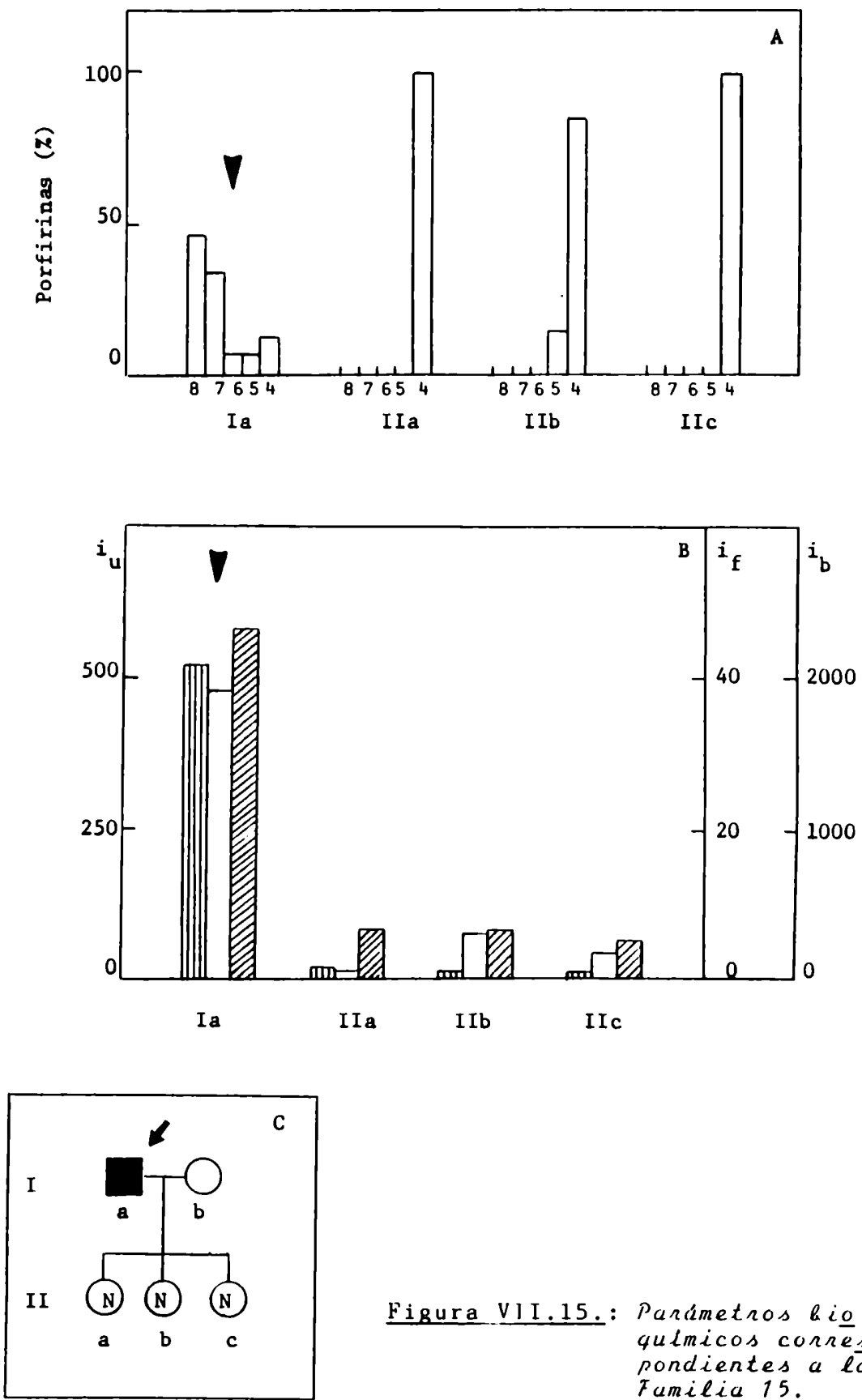


Figura VII.15.: *Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 15.*

Tabla VII.16.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales $\mu\text{g}/24\text{ h}$	Indice (iu)	Porf.totales $\mu\text{g/g seco}$	Indice (if)		
16 VS	Ia (pr.)	M	49	si	1.942	991	536	2,8	2.100	Sintomática
	IIa	F	19	no	109	7	157	3,1	270	-
	IIb	F	24	no	20	10	116	0,5	270	-

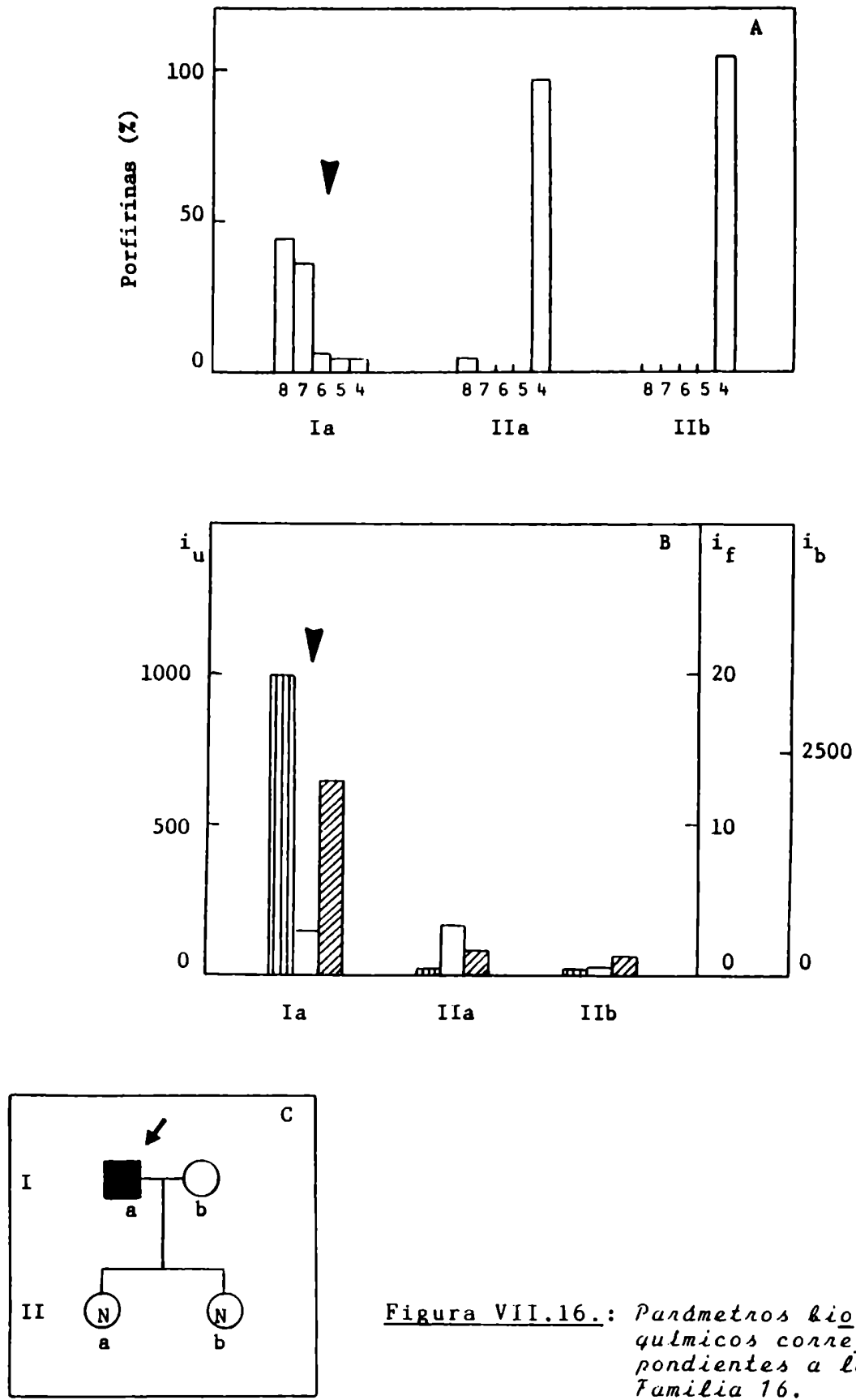


Figura VII.16.: *Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 16.*

Tabla VII.17.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales µg/24 h	Indice (iu)	Porf.totales µg/gseco	Indice (if)		
17 VM	Ib (pr.)	F	45	si	531	1.028	465	1,8	2.100	Sintomática
	IIa	F	23	no	17	10	335	7,6	300	-

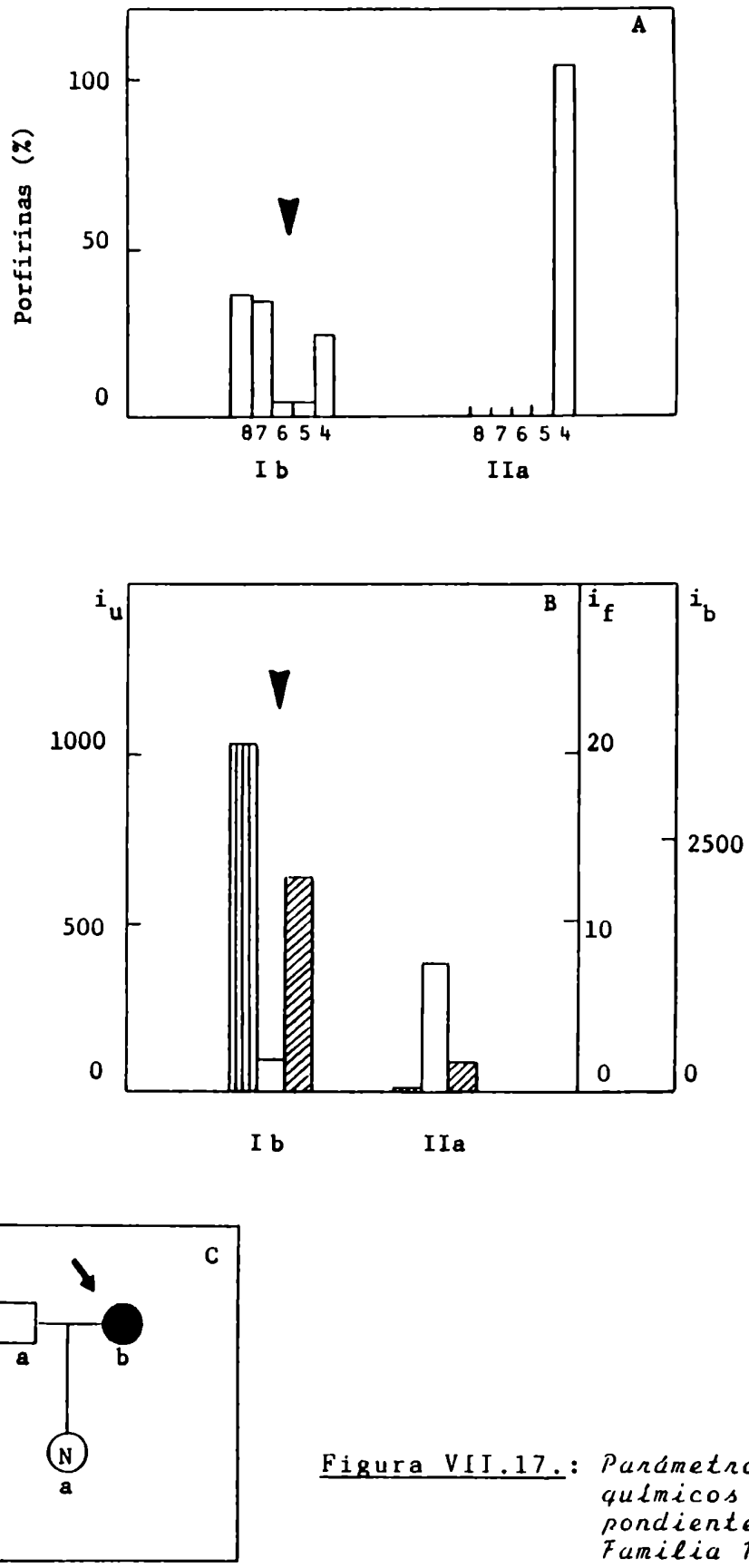


Tabla VII.18.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales µg/24 h	Indice (iu)	Porf.totales µg/g seco	Indice (if)		
18 GV	IIa (pr.)	M	65	si	2.134	4.950	192	4,4	1.300	Sintomática
	IIc	M	68	si	1.566	2.502	336	8,8	1.200	Sintomática
	IIIa	M	36	no	142	10	53	1,9	300	-

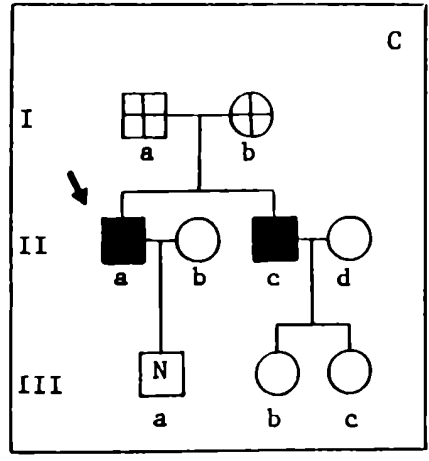
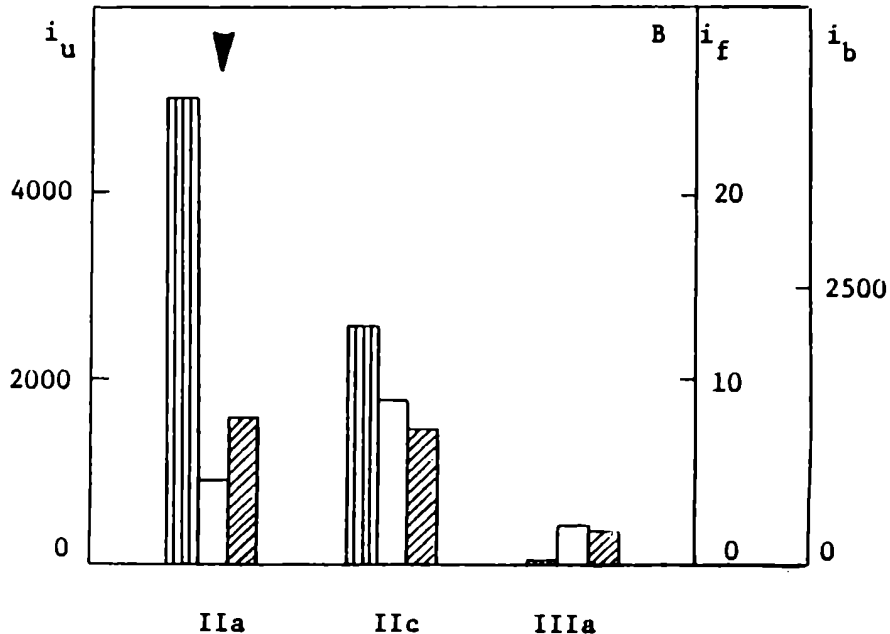
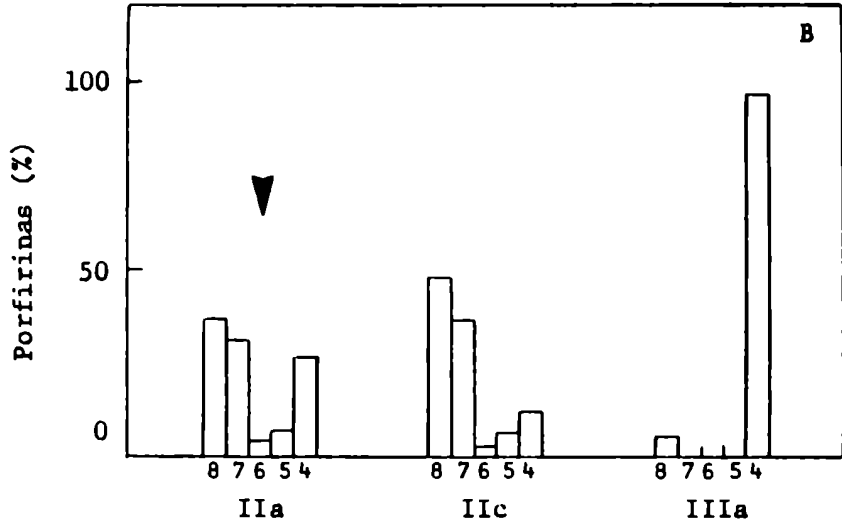


Figura VII.18.: Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 18.

Tabla VII.19.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales µg/24 h	Indice (iu)	Porf.totales µg/g seco	Indice (if)		
19 CM	IIa	M	45	no	154	1.183	266	24	-	Subclínica
	IIb	M	48	no	415	983	-	-	-	Subclínica
	IIc	F	47	no	705	952	247	24	1.800	Subclínica
	IIId	M	21	no	50	16	57	3	180	-
	IIIc (pr.)	M	29	si	1.165	1.239	246	32	2.300	Sintomática
	IIId	F	29	no	20	15	60	1	230	-
	IVa	M	3	no	10	17	55	3	230	-
	IVb	M	4	no	16	17	61	1	220	-
	IVc	F	6	no	934	1.696	-	-	6.500	Subclínica

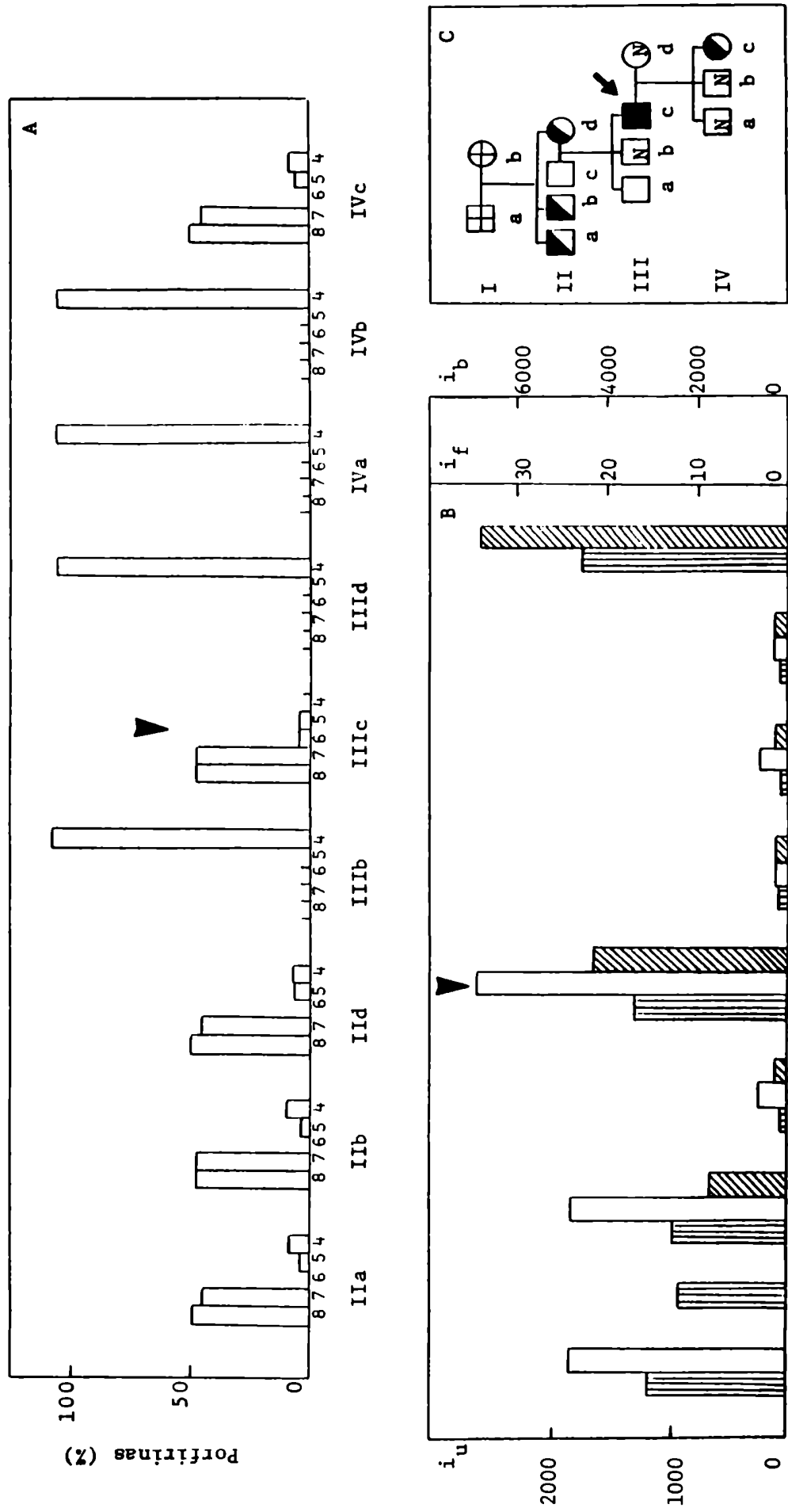


Figura VII.19.: Parámetros bioquímicos correspondientes a La Familia 19.

Tabla VII.20.: *Pandmetnos bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales $\mu\text{g}/24\text{ h}$	Indice (iu)	Porf.totales $\mu\text{g}/\text{g seco}$	Indice (if)		
20 FB	Ia (pr.)	M	70	si	573	1.690	172	14,3	1.800	Sintomática
	IIb	F	42	no	104	420	188	2,0	1.100	Subclínica
	IIIa	F	10	no	58	190	116	6,6	700	Subclínica
	IIIb	F	16	no	65	182	100	2,0	890	Subclínica

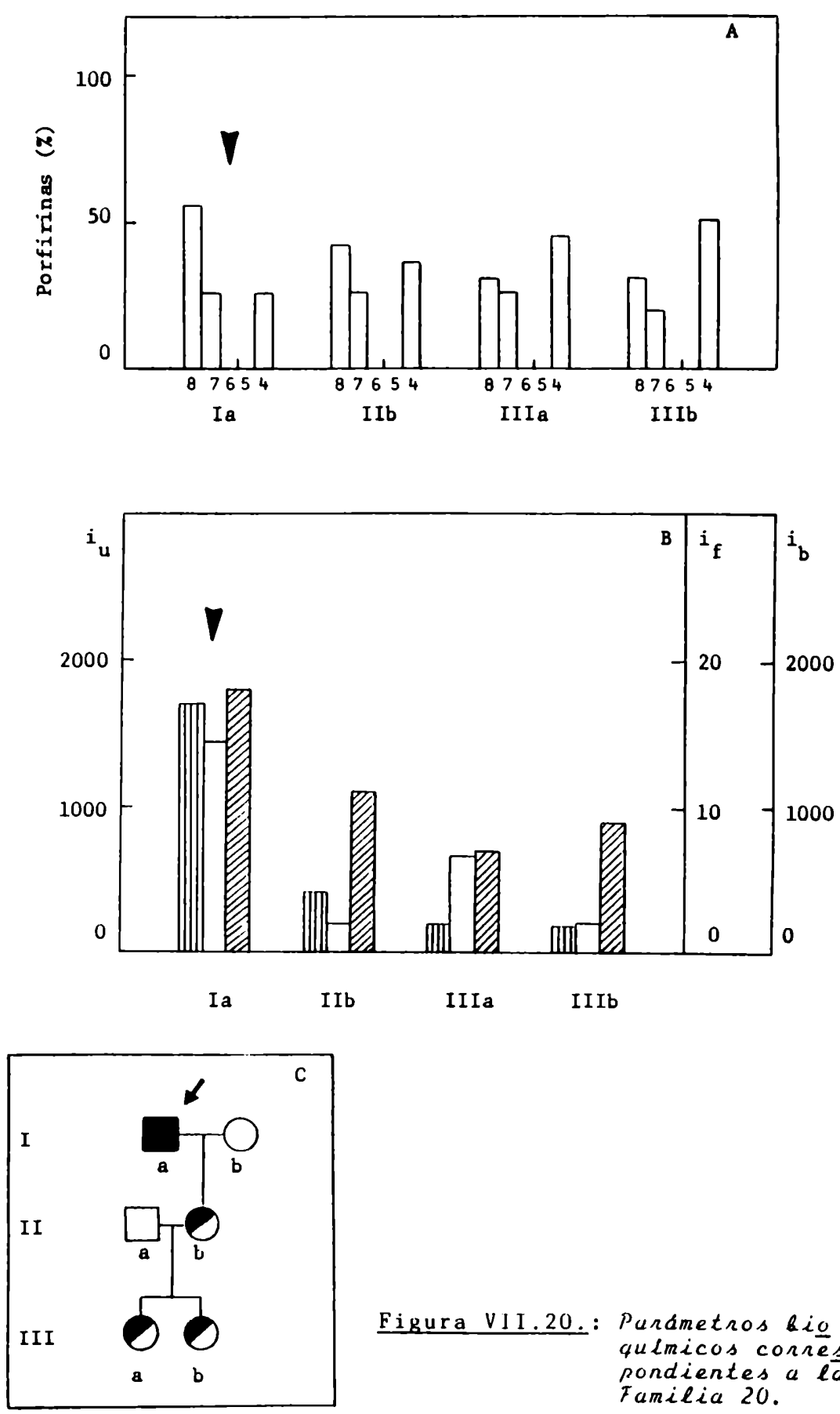


Figura VII.20.: *Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 20.*

Tabla VII.21.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales $\mu\text{g}/24\text{ h}$	Indice (iu)	Porf.totales $\mu\text{g/g seco}$	Indice (if)		
21 ZS	IIa (pr.)	M	55	si	719	781	340	5,6	2.100	Sintomática
	IIc	F	59	no	118	79	424	7,1	690	Subclínica
	IIIa	F	27	no	52	10	108	1,1	230	-
	IIIb	F	30	no	13	10	129	2,5	230	-

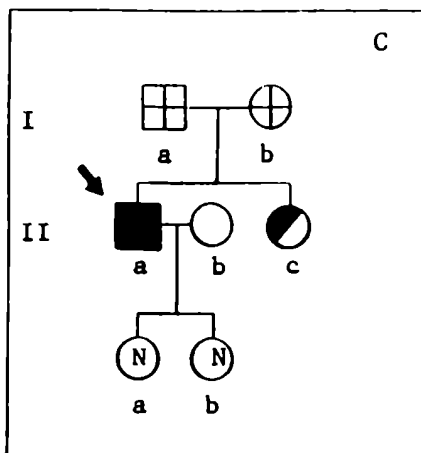
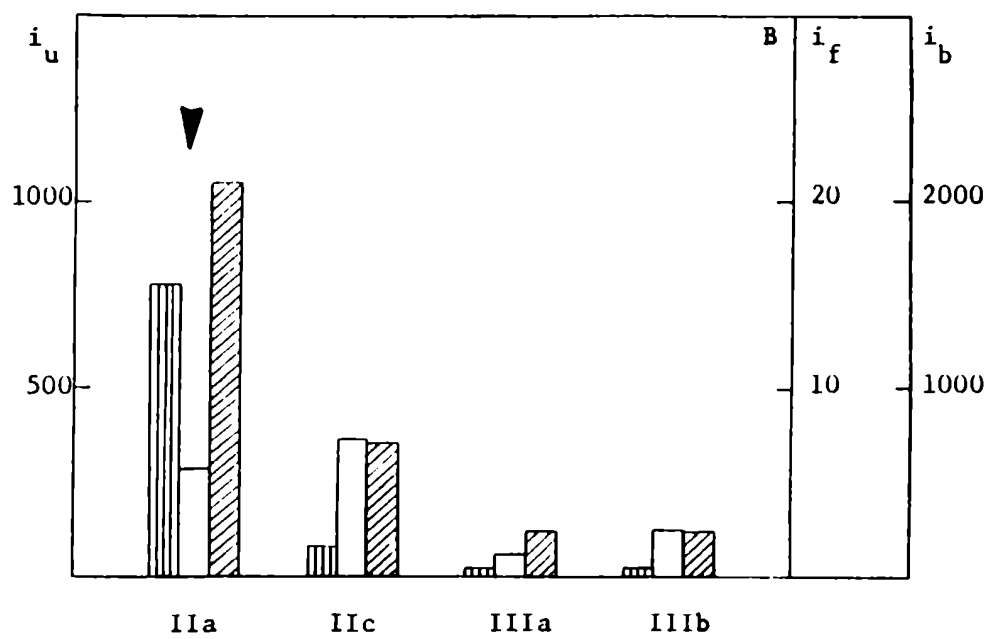
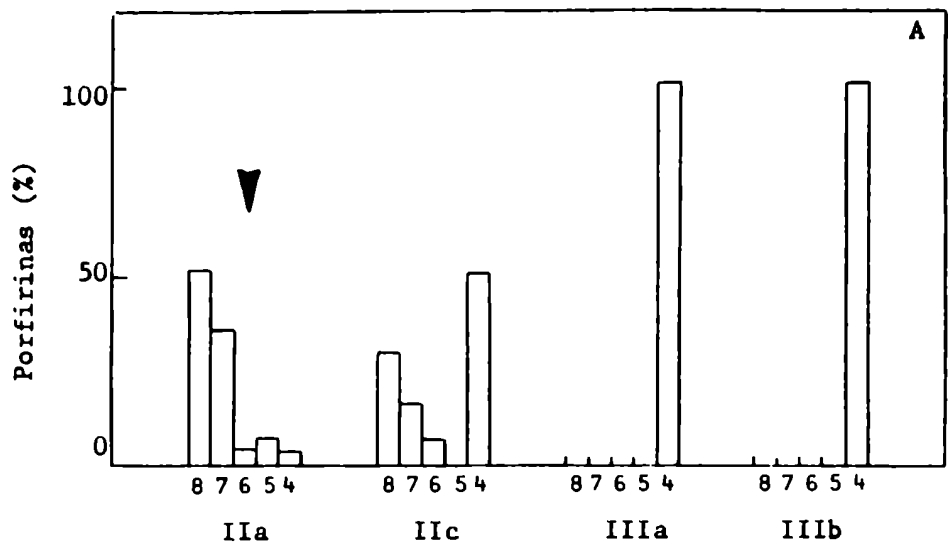


Figura VII.21.: Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 21.

Tabla VII.22.: *Pandmetnos bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales µg/24 h	Indice (iu)	Porf.totales µg/g seco	Indice (if)		
22 MM	Ia (pr.)	M	44	si	2.091	716	253	10	4.100	Sintomática
	IIa	M	8	no	26	100	240	4	1.200	-
	IIb	M	11	no	18	100	145	12	1.000	-
	IIc	M	15	no	32	50	237	12	490	-

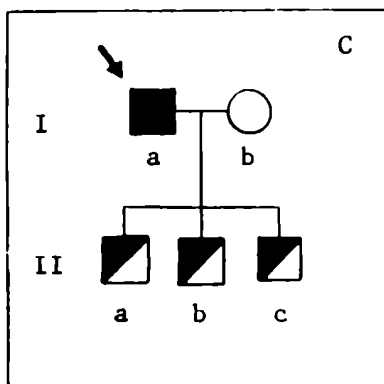
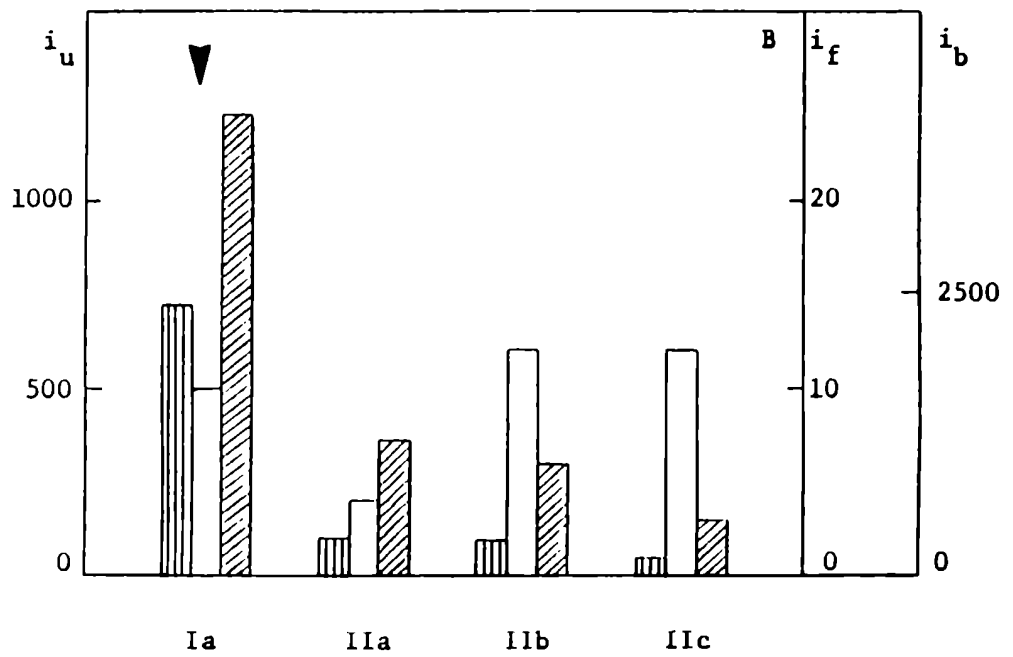
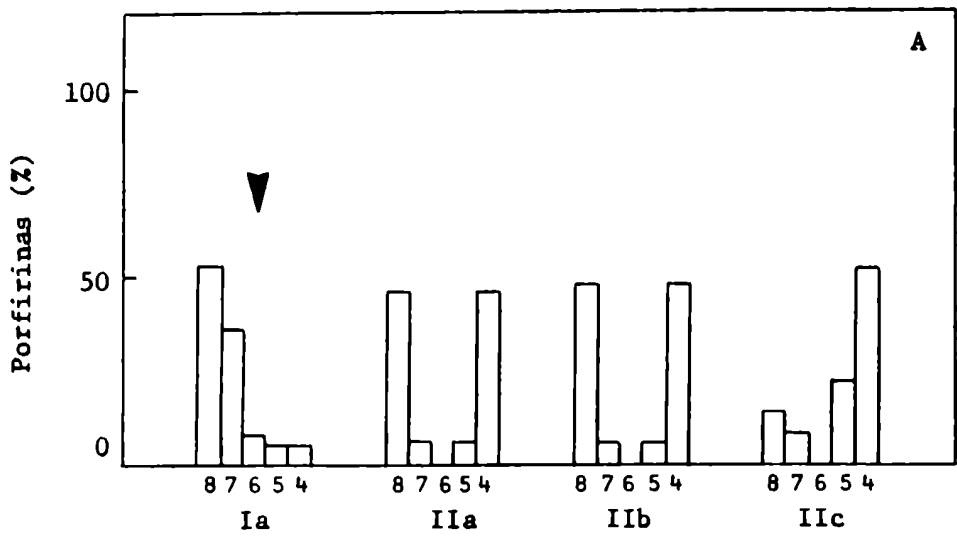


Figura VII.22.: Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 22.

Tabla VII.23.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales $\mu\text{g}/24\text{ h}$	Indice (iu)	Porf.totales $\mu\text{g/g seco}$	Indice (if)		
23 JRC	Ib (pr.)	F	76	si	3.389	826	436	17	6.000	Sintomática
	IIa	M	45	no	32	23	45	11	1.200	Latente
	IIc	F	50	no	125	21	59	3	1.200	Latente
	IId	F	52	no	10	13	59	2,8	250	-

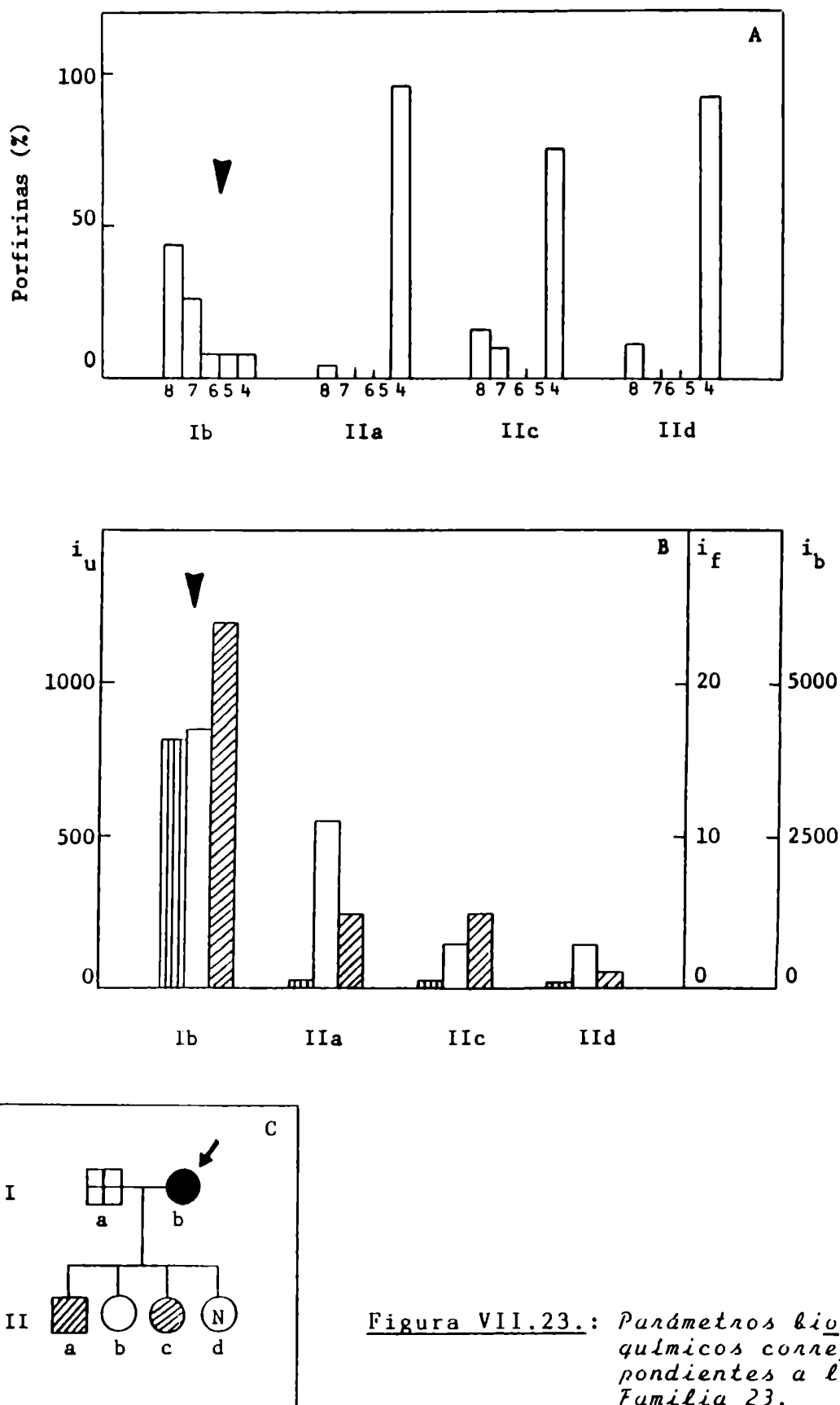


Figura VII.23.: *Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 23.*

Tabla VII.24.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales $\mu\text{g}/24\text{ h}$	Indice (iu)	Porf.totales $\mu\text{g/g seco}$	Indice (if)		
24 SD	Ia (pr.)	M	64	si	1.089	1.296	249	4	1.200	Sintomática
	IIa	M	25	no	29	15	80	3	214	-
	IIb	F	14	no	157	67	100	18	950	Latente

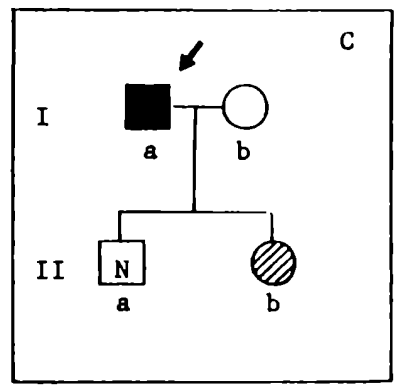
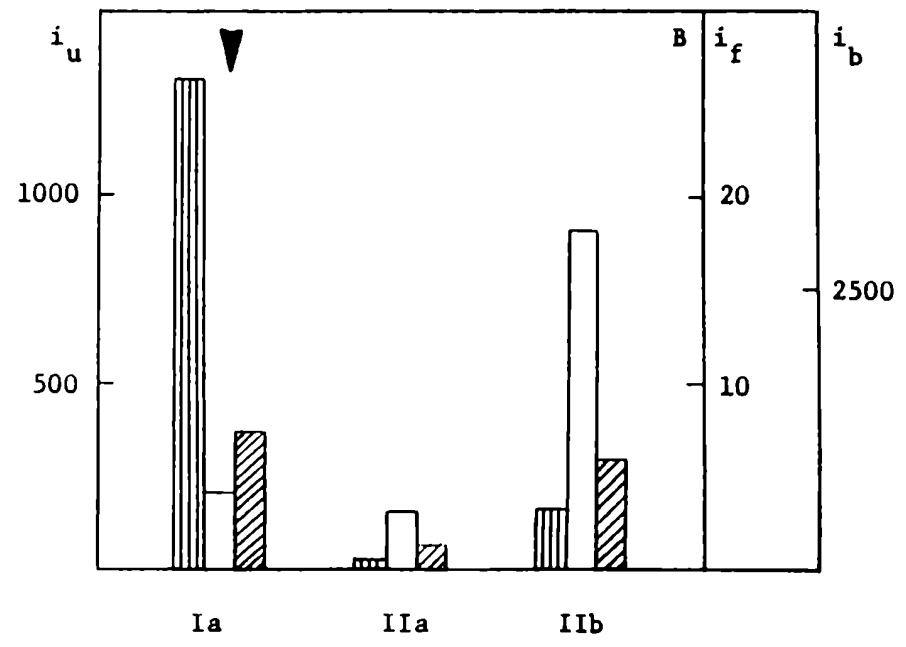
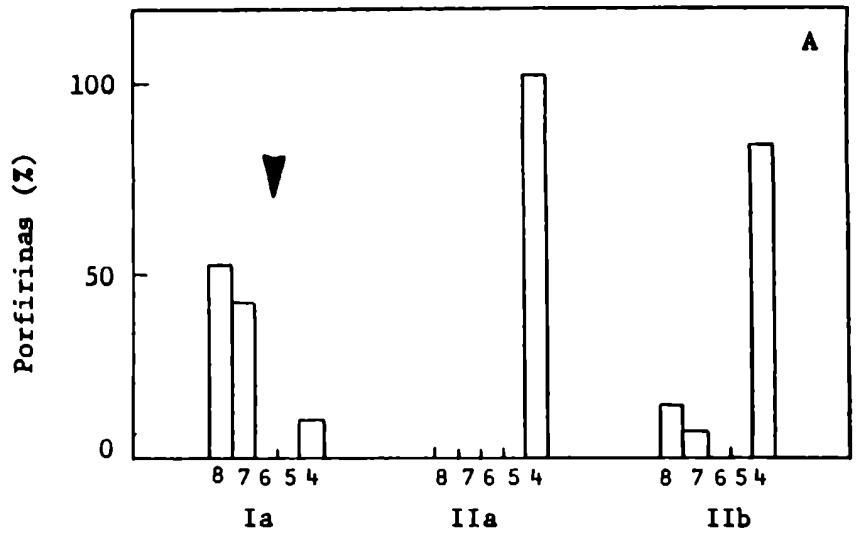


Figura VII.24.: Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 24.

Tabla VII.25.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales ug/24 h	Indice (iu)	Porf.totales ug/g seco	Indice (if)		
25 LJK	IIa	F	37	no	10	15	85	1,6	250	-
	IIb (pr.)	F	47	si	4.742	759	516	4,6	1.600	Sintomática
	IIc	F	64	no	76	15	213	9,6	950	Latente

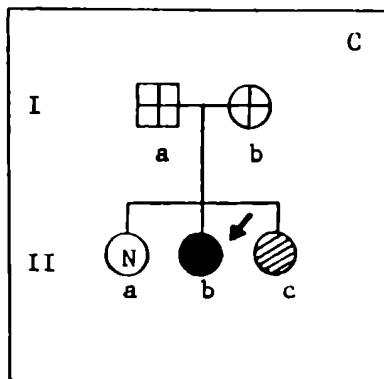
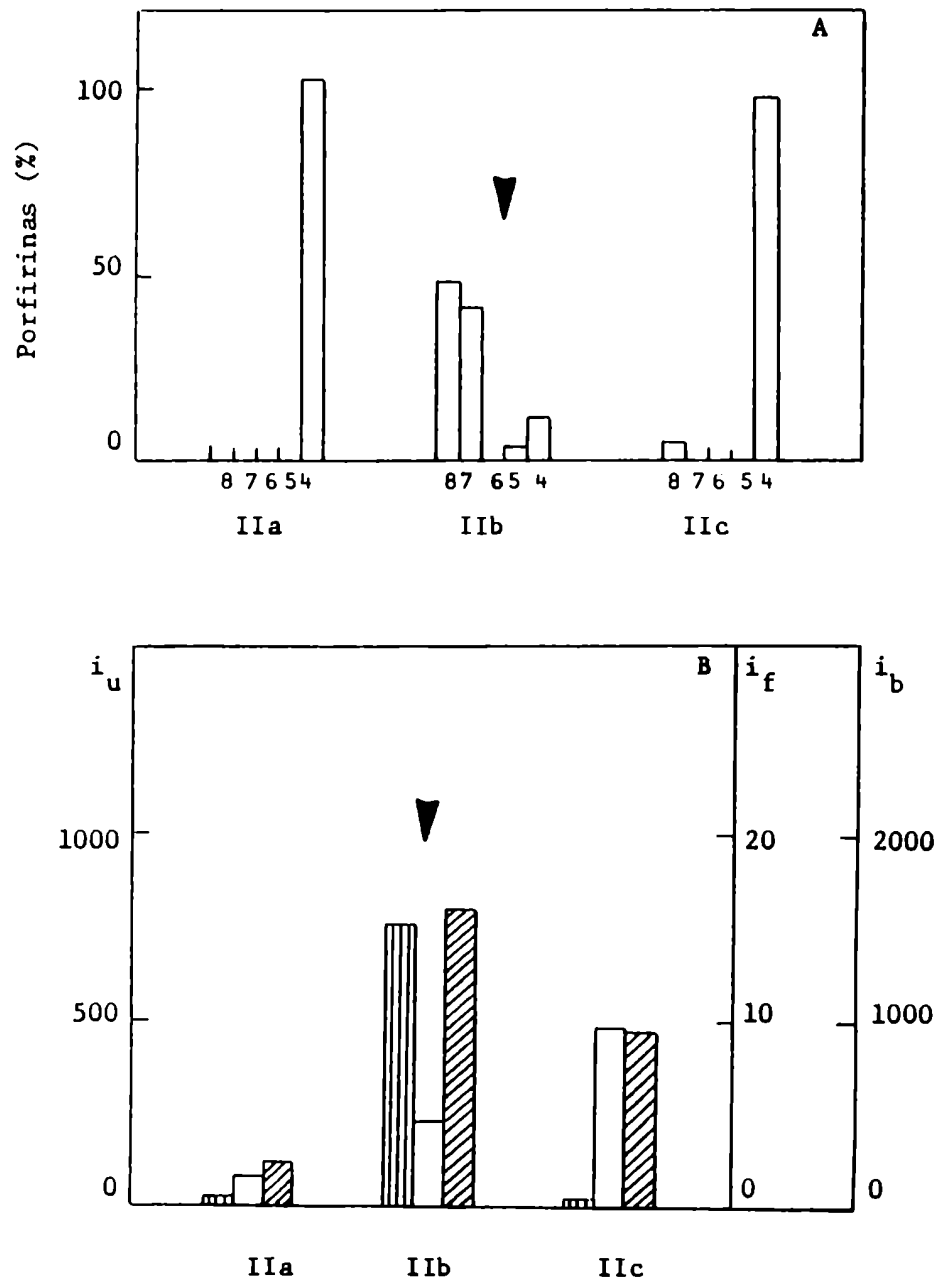


Figura VII.25.: *Parámetros bioquímicos correspondientes a la Familia 25.*

Tabla VII.26.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales $\mu\text{g}/24\text{ h}$	Indice (iu)	Porf.totales $\mu\text{g/g seco}$	Indice (if)		
26 CJ	IIa (pr.)	M	52	si	1.633	656	200	8	2.500	Sintomática
	IIc	F	64	no	16	25	90	1	577	Subclínica
	IId	F	66	no	23	83	80	7	451	Subclínica
	IIIa	F	18	no	36	12	86	3	1.100	Latente
	IIIb	F	24	no	18	10	96	1	1.066	Latente

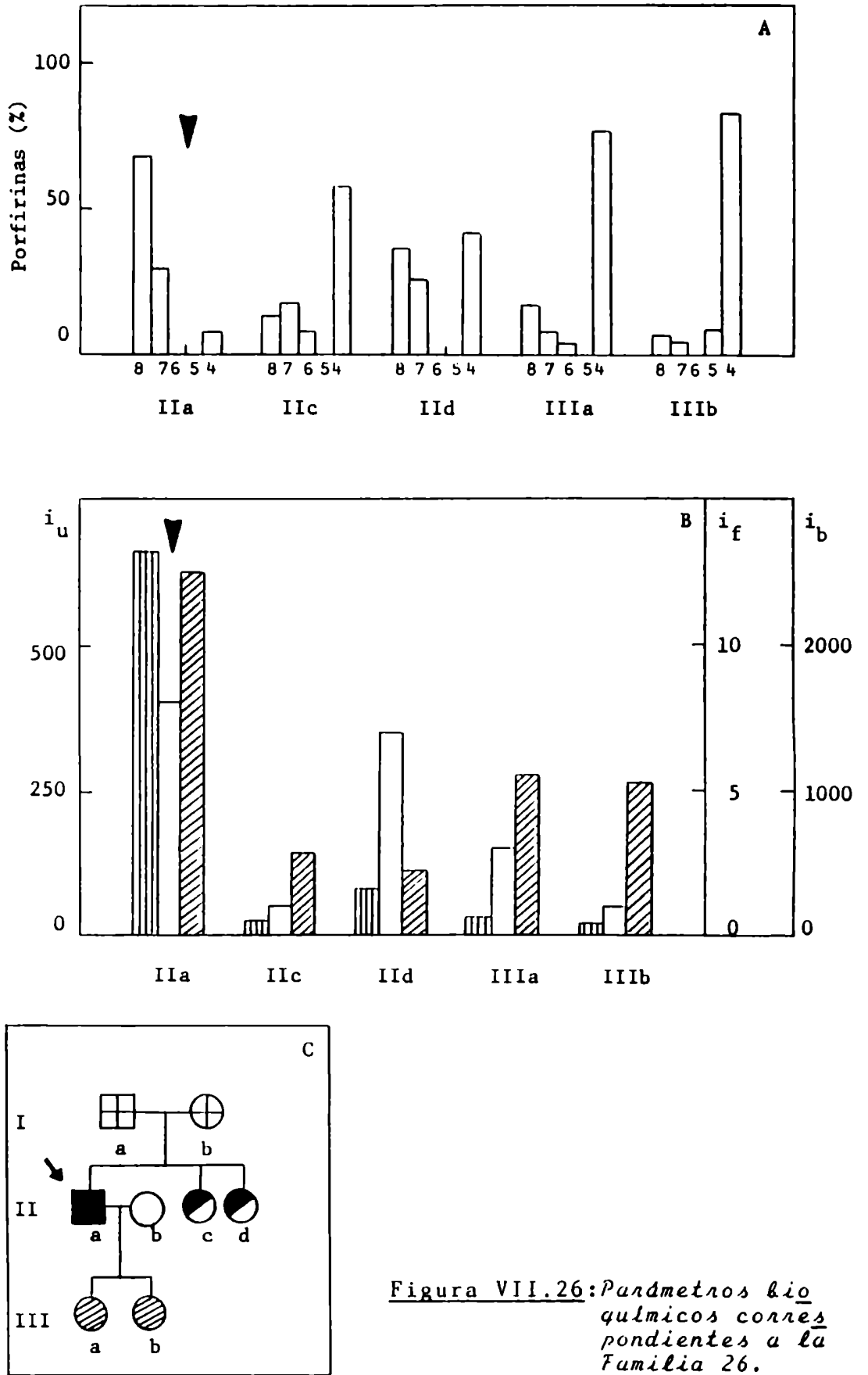


Tabla VII.27.: *Parámetros bioquímicos*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SINDROME CLINICO	ORINA		HECES		INDICE BIOSINTETICO (ib)	TIPO DE PCT
					Porf.totales µg/24 h	Indice (iu)	Porf.totales µg/g seco	Indice (if)		
27 CMI	Ib (pr.)	F	66	si	4.476	1.730	214	5	6.100	Sintomático
	IIa	M	38	no	620	199	281	18	7.300	Subclínico
	IIb	F	40	no	13	15	72	1	7.000	Latente

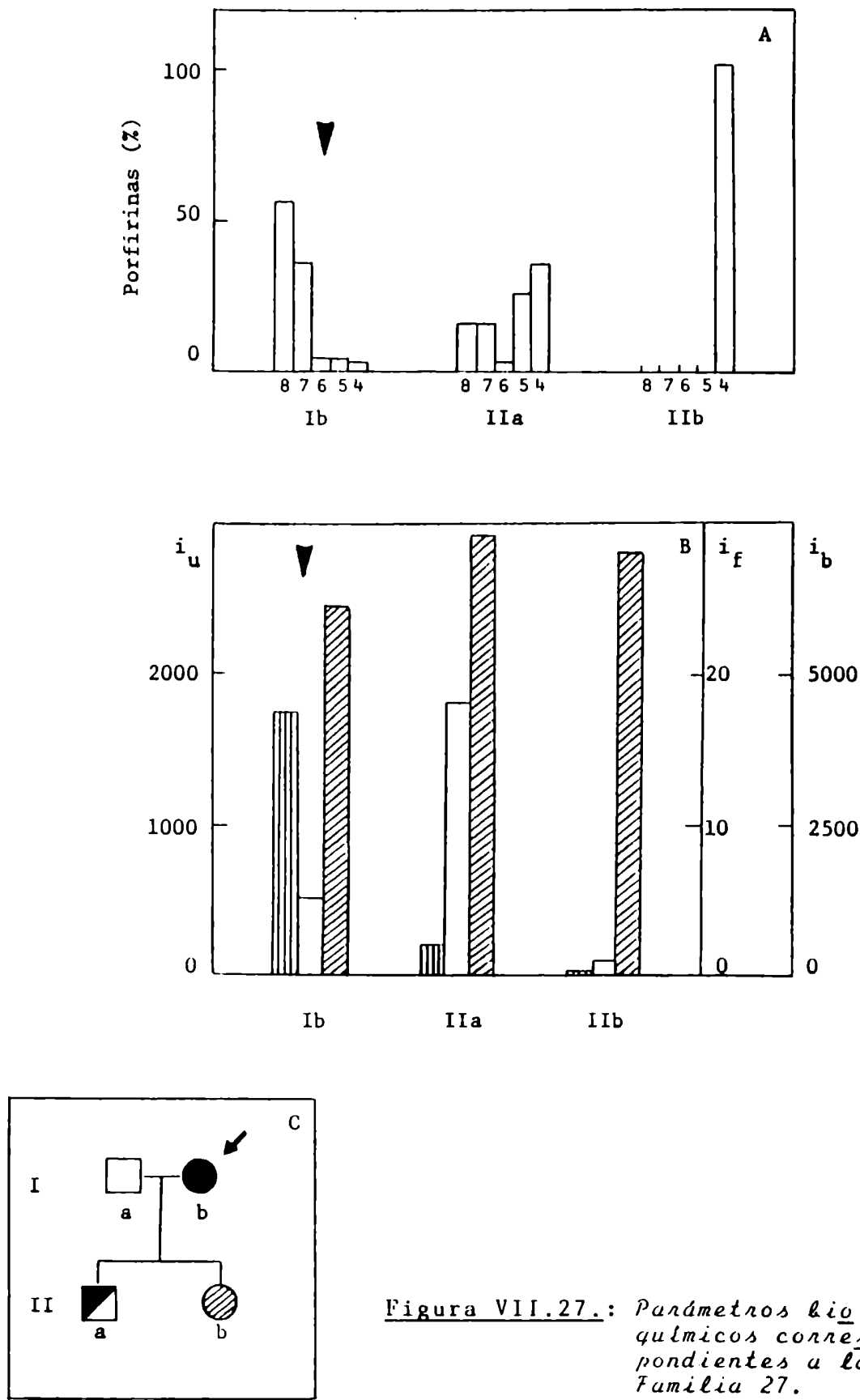


Tabla VII.28.: *Incidencia de casos de PC7 sintomática, subclínica y latente en 27 familias*

FAMILIA	Nº DE MIEMBROS ESTUDIADOS	Nº DE MIEMBROS AFECTADOS		
		Sintomática	Subclínica	Latente
1 BG	4	1	-	-
2 BF	3	1	-	-
3 GA	3	1	-	-
4 HP	4	1	-	-
5 LN	5	1	-	-
6 MJ	3	1	-	-
7 MF	3	1	-	-
8 PJ	8	1	-	-
9 PO	5	1	-	-
10 PA	2	1	-	-
11 RJM	4	1	-	-
12 RM	5	1	-	-
13 SD	3	1	-	-
14 TM	4	1	-	-
15 TJ	4	1	-	-
16 VS	3	1	-	-
17 VM	2	1	-	-
18 GV	3	2	-	-
19 CM	9	1	4	-
20 FB	4	1	3	-
21 ZS	4	1	1	-
22 MM	4	1	3	-
23 JRC	4	1	-	2
24 SD	3	1	-	1
25 LJ	3	1	-	1
26 CJ	5	1	2	2
27 CMI	3	1	1	1
Totales	107	28	14	7

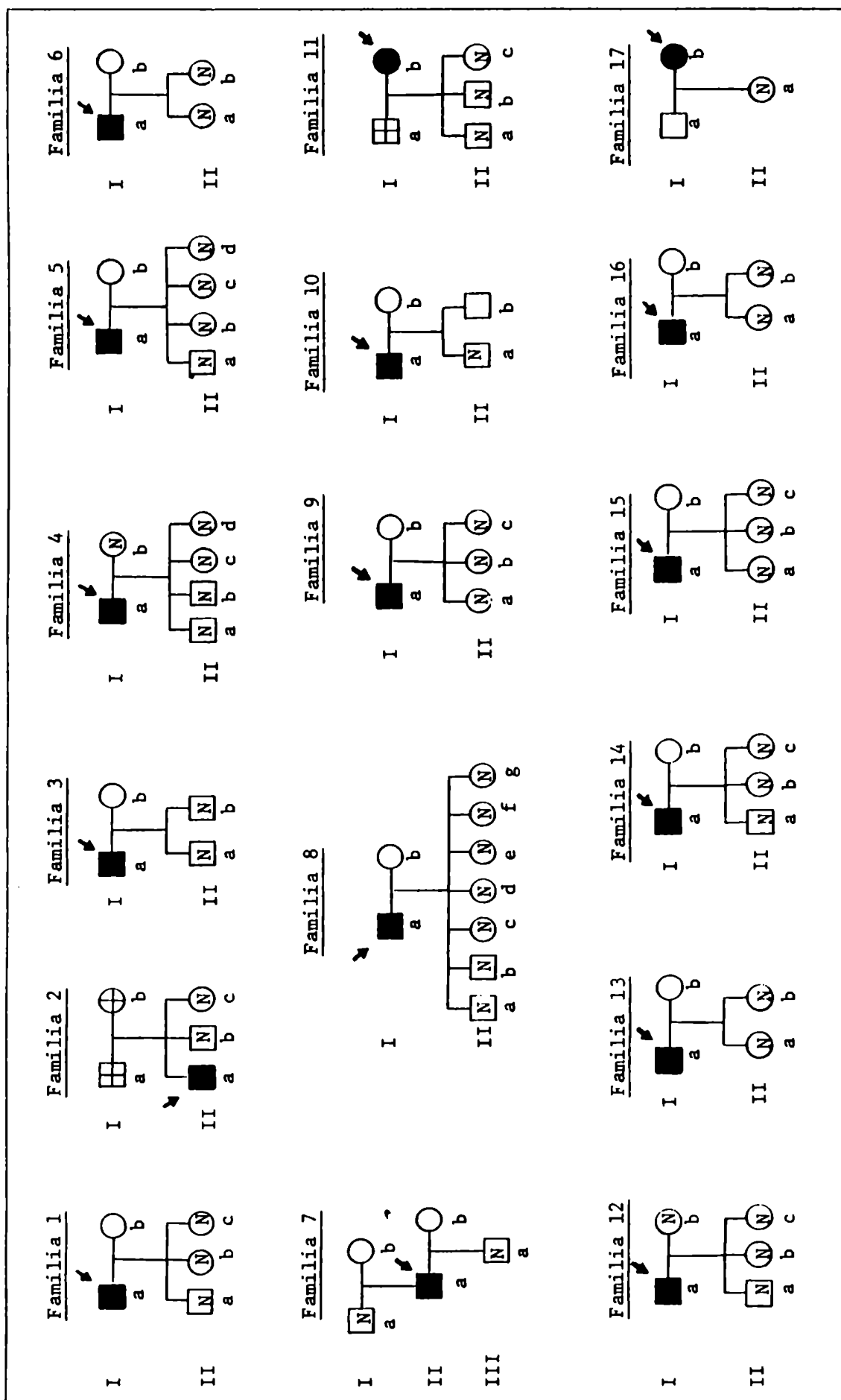


Figura VII.28.: Porfíria cutânea tarda no hereditaria c adquirida

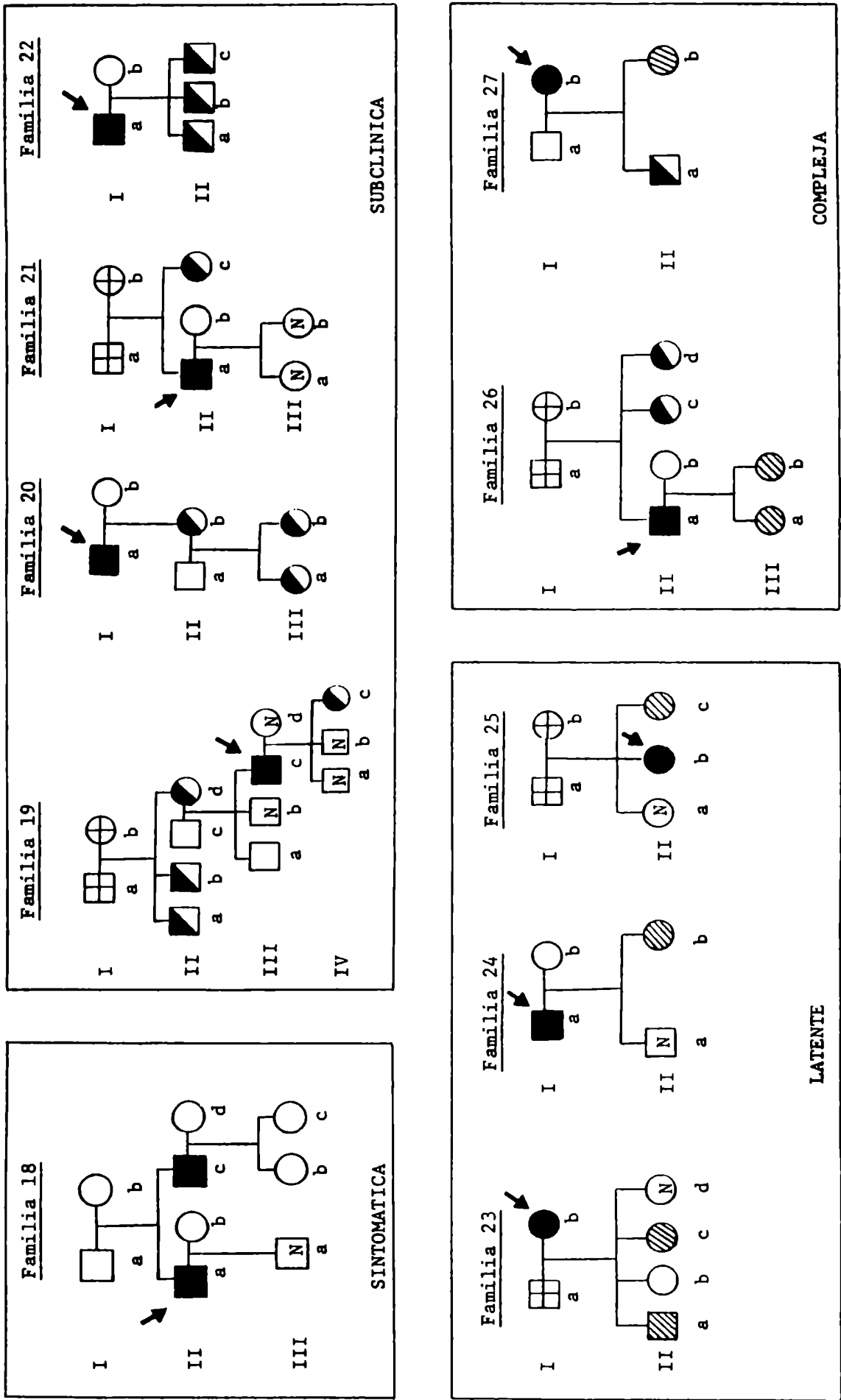


Figura VII.29.: Porfíria cutánea tarda hereditaria

VII.5. REFERENCIAS

- Afonso, S.; Chinarro Familiar, S.; Stella, A.; Batlle, A.; Lenczner, M. & Magnin, P. Rev. Arg. Derm. 66 (1985) 12.
- Alleman, M.; Wilson, J.; van der Berg, J.; Edixhovenbosdijk, A. & van Gastelquist, L. Clin. Chem. 28 (1982) 1144.
- Batlle, A.; Wider de Xifra, E.; Stella, A.; Bustos, N.; Vázquez, E. & Magnin, P. Rev. Arg. Derm. 60 (1979 a) 102.
- Batlle, A.; Wider de Xifra, E.; Stella, A.; Bustos, N. & With, T.; Clin. Sci. 57 (1979 b) 63.
- Benedetto, A.; James, D.; Kushner, J. & Taylor, J. N. Engl. J. Med. 298 (1978) 358.
- Blekkenhorst, R.; Pimstone, N. & Eales, L. en: "Porphyrins in Human Diseases" (1976) 299. (Ed. M. Doss) S. Karger-Basel.
- Cruces Prado, M.; Enriquez de Salamanca, R.; Vereas Hernando M.; Peña Payero, M.; Catalan Beltrán, T. & Robledo Aguilar, A. Dermatologica 161 (1980) 205.
- Dehlin, D.; Enerback, L. & Lundvall, O. Acta Med. Scand. 194 (1973) 265.
- de Verneuil, H.; Nordmann, Y.; Phung, N.; Grandchamp, B.; Aitken, G.; Grellet, M. & Noire, J. Int. J. Biochem. 9 (1978) 927.
- Doss, M. Enzyme 16 (1973) 343.
- Doss, M.; Look, D.; Henning, H.; Luders, C.; Dolle, W. & Strohmeyer, G. Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 9 (1971) 471.
- Doss, M.; Meinhof, W.; Look, D.; Henning, H.; Nawroki, P.; Dolle, W.; Strohmeyer, G. & Filippini, L. S. Afr. Met. J. 45 (1971) 50.
- Doss, M. & Schermuly, E. en: "Porphyrins in Human Diseases" (1976) 189. (Ed. M. Doss) S. Karger-Basel.
- Doss, M.; Tiepermann, R.; Look, D.; Henning, H.; Nikolowski, J.; Rickmann, F. & Braun-Falco, O. Klin. Wochenschr 58 (1980) 1347.

- Elder, G. J. Clin. Pathol. 28 (1975) 601.
- Elder, G.; Lee, G. & Tovey, J. N. Engl. J. Med. 299 (1978) 274.
- Elder, G.; Sheppard, D.; Enriquez de Salamanca, R. & Olmos, A. Clin. Sci. 58 (1980) 477.
- Enriquez de Salamanca, R.; Catalan, T.; Cruces, M.; Peña, M.; Olmos, A. & Mas, V. Int. J. Biochem. 12 (1980) 869.
- Felsner, B.; Morris, M. & Smith, J. N. Engl. J. Med. 299 (1978) 1095.
- Kushner, J.; Barbutto, A. & Lee, G. J. Clin. Inv. 58 (1976) 1089.
- Kushner, J.; Steinmuller, D. & Lee, G. J. Clin. Inv. 56 (1975) 661.
- Lerh, P. & Doss, M. Dtsch. med. Wschr. 106 (1981) 241.
- Magnin, P.; Batlle, A.; Wider de Xifra, E.; Lenczner, M.; Parera, V. & Stella, A. Int. J. Dermatology 21 (1982) 142.
- Magnin, P.; Wider de Xifra, E.; Lenczner, M.; Stella, A. & Batlle, A. Int. J. Biochem. 12 (1980) 873.
- Mc Ewin, R. Med. J. Aust. 2 (1973) 398.
- Miyagi, K.; Petryka, Z.; Bossenmaier, I.; Cardenal, R. & Watson, C. Ann. J. Haematol. 1 (1976) 3.
- Moore, M.; Thompson, G.; Allen, G.; Hunter, J. & Parker, S. Clin. Sci. Mol. Med. 45 (1973) 711.
- Parera, V.; Stella, A.; Wider de Xifra, E.; Fukuda, H. & Batlle, A. Int. J. Biochem. 12 (1980) 947.
- Perrot, H.; Thivolet, J. Ann. Dermatol. Syphiligr. (Paris) 97 (1970) 5.
- Piñol-Aguadé, J.; Herrero, C.; Almeida, J.; Smith, S. & Belcher, R. Br.J.Dermatol. 93 (1975) 277.
- Prato, V.; Mazza, U.; Battistini, V. & Massaro, L. Minerva Med 65 (1974) 3599.
- Schermuly, E. & Doss, M. Ann. Clin. Res. 8, suppl. 17 (1976) 92.
- Stella, A.; Wider, E.; Lenczner, M.; Magnin, P. & Batlle, A. Acta Bioq. Clin. Lat. XVI (1982) 389.

- Strik, J.; Janssen, M. & Colombi, A. *Int. J. Biochem.* 12 (1980) 879.
- Topi, G. & D'Alessandro, L. *Br. J. Dermatol.* 97 (1977) 617.
- Viljoen, J.; Becker, R. & Kramer, S. *Comp. Biochem. Physiol* 558 (1976) 151.
- Waldenström, J. & Haeger-Arönsen, B. *Prog. Med. Genet.* 5 (1963) 58.
- Waldenström, J. & Haeger-Arönsen, B. *Br. Med. J.* 2 (1967) 272.
- Wider de Xifra, E.; Stella, A.; Juknat, A.; Batlle, A.; Magnin, P. & Castellanos Pose, F. *Rev. Arg. Derm.* 60 (1979) 226.
- With, T. *Dan. Med. Bull.* 22 (1975) 74.
- With, T. en: "Porphyrins in Human Diseases" (1976) 492. (Ed. M. Doss) S. Karger- Basel.

C A P I T U L O V I I I

LA HERENCIA EN LA PORFIRIA CONGENITA ERITROPOYETICA

VIII. LA HERENCIA EN LA PORFIRIA CONGENITA ERITROPOYETICA

VIII.1. INTRODUCCION

La Porfiria Congénita Eritropoyética (PCE), también conocida como enfermedad de Günther fue descripta por primera vez por Hans Günther en su trabajo pionero de 1911. Sin embargo el primer caso de PCE, lo publicó Schultz en 1874, como una manifestación atípica de lepra. La PCE es una condición muy rara, totalizan aproximadamente 75 los casos registrados en la literatura y se transmite con carácter autosómico recesivo tanto en el hombre como en el ganado bovino (Meyer y Smith, 1978; With, 1980).

Los síntomas comienzan generalmente desde edad muy temprana, aunque hay descriptos cinco casos de manifestación tardía (Kramer y col., 1965; Pain y col., 1975; Weston y col., 1978; Deybach y col., 1981)., con una severa fotodermatosis que deja profundas cicatrices, a menudo mutilantes en las áreas expuestas a la luz, eritrodoncia, orinas rojas, hipertrichosis y anemia hemolítica, algunos pacientes desarrollan esplenomegalia. La prognosis es a menudo mala y la muerte ocurre usualmente a corta edad.

Las principales características bioquímicas en la PCE son una excreción urinaria de grandes cantidades de Uro y Coproporfirinas del tipo isomérico I y un notable incremento de Coproporfirina en heces, en tanto que la eliminación de precursores ALA y PBG es normal.

Se han propuesto tres modelos para explicar el aumento de porfirinas de la serie I; por un lado la falla se ha identificado con una actividad disminuida de la Isomerasa (Romeo y Levin, 1969), o con un aumento en la actividad de la Deaminasa (Watson y col., 1964), o con un incremento en la actividad de la Deaminasa concomitante con una disminución en la actividad de la Isomerasa (Moore y col., 1978; Batlle y col., 1979).

El patrón de porfirinas de la PCE difiere marcadamente del típico para la PCT, en la cual predominan Uroporfirina y la porfirina heptacarboxílica, esta última casi totalmente del tipo isomérico III. Sin embargo son pocos los casos de PCE que se han estudiado con las técnicas más modernas para la i-

dentificación, cuantificación y determinación de los tipos isoméricos de las porfirinas. Hace unos 12 años se describió el primer caso de un niño con PCE en Noruega (Rimington y With, 1973; Eriksen y Eriksen, 1974), cuyo patrón en la excreta tenía las características de una PCT, sugiriéndose una participación hepática en el desorden, y fue considerado como una forma atípica de PCE. Kench y col. (1953), Heilmeyer y col. (1963) y más recientemente Stenberg y With (1982), han encontrado el mismo patrón del niño noruego en cuatro pacientes con una PCE clínicamente típica, proponiendo que el perfil tipo PCT podría encontrarse en la PCE, aunque es necesaria la investigación de un mayor número de casos con los más modernos métodos analíticos para dilucidar esta cuestión.

En 1975, Piñol Aguadé y col (a y b), describieron dos casos de porfiria cutánea, manifestadas a los 8 meses de edad con un cuadro clínico característico para una PCE, pero sin eritrodoncia y con un perfil de porfirinas urinarias conteniendo grandes cantidades de Uro, Hepta y Pentaporfirinas, que los autores denominaron Porfiria Hepatoeritropoyética (PHE). Actualmente hay 11 casos de la llamada PHE, 8 de ellos recopilados por Czarnecki (1980). Un análisis de las características de la PHE nos muestra que tiene elementos comunes de la PCE, de la PCT y también de la PPE; sin embargo presenta asimismo algunos signos que permiten diferenciarla de todas ellas, como por ejemplo la ausencia de eritrodoncia (Piñol Aguadé y col., 1975 a y b), una deficiencia cercana al 90% en la actividad de la URO-D en sangre (Lázaro y col., 1984) y disfunción hepática entre otros.

En este trabajo se han estudiado dos hermanos con las características clínicas de una PCE, manifestadas desde edad temprana; los estudios se hicieron extensivos a un hermano varón mayor y a ambos padres. Los datos clínicos y bioquímicos han confirmado el diagnóstico de PCE, estableciéndose que en estos pacientes la falla metabólica consiste primariamente en un aumento relativo de la actividad de la Deaminasa, acompañado de una deficiencia parcial de la Isomerasa, que a su vez provoca un incremento secundario en la actividad del ALA-S.

VIII.2. MATERIALES

Se han estudiado los cinco miembros de la familia que se ilustra en la Figura VIII.1., radicados en Tartagal, Salta Argentina.

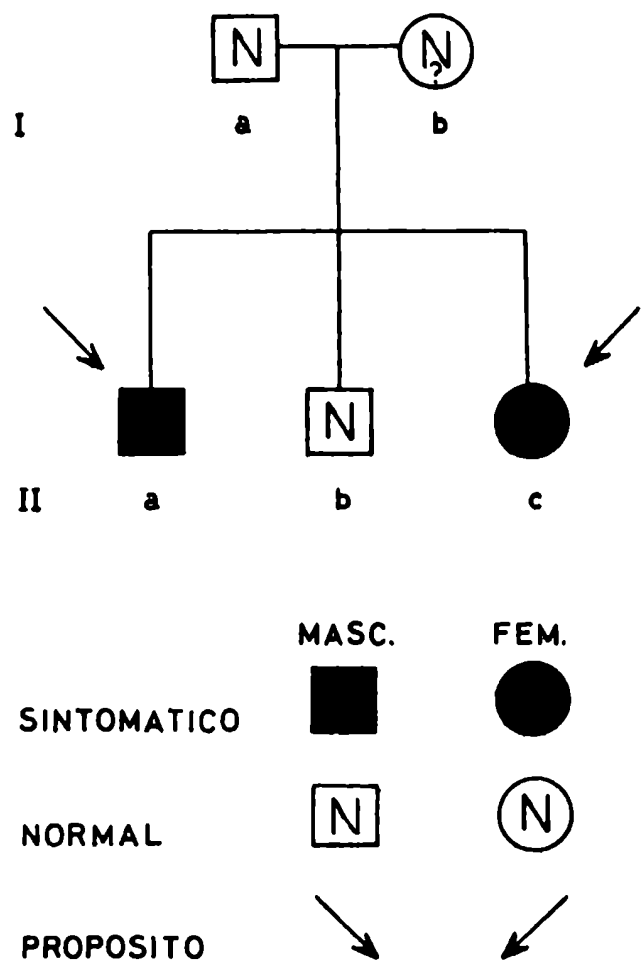


Figura VIII.1.: Pedigree

- Paciente IIa: niño de 2 años de edad, la enfermedad comienza con orinas rojas, hay eritrodoncia, inicialmente sin lesiones en piel y con un estado general bueno, consulta a raíz de tener una hermanita internada con diagnóstico presuntivo de porfiria, por lo cual se sospecha que también pueda ser lo este niño y se envían muestras de orina, heces y sangre a Buenos Aires, para los estudios bioquímicos; meses después, establecido el diagnóstico, sus hermanos y padres se trasladan a la Capital para un estudio clínico y bioquímico completo.
- Paciente IIc: niña de 3 años de edad, la enfermedad comienza a los 2 años, consulta por ampollas en manos, pies y zonas descubiertas. Recibe una serie de medicamentos orales e inyectables hasta que en un servicio de Dermatología de Salta se le diagnostica porfiria, indicándosele protectores solares y medicación oral. Al poco tiempo se observa hipertrichosis más marcada en piernas; hay lesiones maculares hiperpigmentadas residuales en cara y rodillas, edema en dorso de ambos pies. Dado que accidentalmente parece haber tenido contacto con hexaclorobenceno se plantea también una posible porfiria hepática cutánea. Se envían entonces muestras a Buenos Aires, junto con las de su hermano para establecer diagnóstico y luego se la traslada con la familia.
- Caso Ia: padre de los pacientes, 26 años, comerciante, sin antecedentes.
- Caso IIa: madre de los pacientes, 24 años, ama de casa, sin antecedentes.
- Caso IIb: hermano varón, 6 años, sin antecedentes.

VIII.3. RESULTADOS

VIII.3.1. Precursores y porfirinas en orina y heces

El diagnóstico de PCE se confirmó en los dos niños IIa y IIc, mediante el análisis de las porfirinas urinarias (Tabla VIII.1.). En ambos pacientes se encontró una excreción masiva de Uro y Coproporfirinas, con significativo predominio de la serie I, el porcentaje de porfirina Heptacarboxílica fue bajo. También se hallaron porfirinas fecales en exceso, con

notable incremento de Coproporfirina, respondiendo así, ambos perfiles a los típicos para una PCE. La excreción urinaria de precursores fue normal. Con respecto a los tres familiares, no se apreció ninguna anomalía.

Tabla VIII.1.: Precusores y porfirinas en orina y heces

CASO	SEXO	EDAD	FOTOS.	ORINA											HECES								
				ALA	PBG	PORFIRINAS										PORFIRINAS							
						Total en	%							Total en	%								
							mg/24 h	mg/24 h	µg/24 h	III	III1	7	6		5	CI	CI11	µg/g heces	8	7	6	5	4
Ia	M	26	no	0,32	1,97	175	-	-	-	-	-	-	100	58,6	4	4	2	8	42	13	27		
Ib	F	24	no	0,97	2,09	256	3	2	-	-	-	-	95	95,1	1	1	-	-	43	14	41		
IIa	M	2	si	0,81	1,48	6.794	22	15	12	3	4	26	18	359,0	16	2	1	1	69	7	4		
IIb	M	6	no	1,34	1,85	189	2	1	2	-	-	-	95	60,5	4	8	3	-	22	18	45		
IIc (pr)	F	3	si	0,54	1,35	12.504	32	17	5	1	6	25	14	1.267,6	14	6	-	1	66	6	7		
Normal				2-4	1-2	20-250	-	-	-	-	-	-	100	20-130	2	2		4	24	8	60		

VIII.3.2. Indice de Fluorescencia y porfirinas en glóbulos rojos y plasma

El índice de fluorescencia en plasma, que es un indicador rápido y simple para la identificación de las diferentes porfirias (Schoua y Batlle, en preparación), se encontró aumentado más de 4 veces en la niña y cerca de 2 veces en el niño (Tabla VIII.2.), correspondiendo claramente a una porfiria cutánea, que de acuerdo al máximo de emisión (619 nm) podría tratarse de una PCE o una PCT; este dato sumado a la cuantificación e identificación de las porfirinas presentes en plasma, incrementadas entre 50 y 70 veces en ambos niños, y con predominio de Uroporfirina I, señalan sin lugar a dudas a una PCE. En glóbulos rojos se detectó asimismo una concentración elevada de porfirinas en los dos pacientes, con un cuadro también compatible con una PCE. En los familiares todos estos parámetros fueron normales.

Tabla VIII.2.: *Indice de fluorescencia; porfirinas en glóbulos rojos y plasma*

CASO	I _f (Max)	GLOBULOS ROJOS							P L A S M A						
		Totales	%							Totales	%				
		µg/100 ml GR	8	7	6	5	4	3	2	µg/ml	UI	UIII	7	6	5
Ia	1,30 (619)	185,3	-	-	-	-	-	-	-	0,008	-	-	-	-	-
Ib	1,30 (619)	133,3	-	-	-	-	-	-	-	0,036	-	-	-	-	-
IIa	2,39 (618)	548,3	18	-	-	1	23	-	58	1,826	43	14	4	-	11
IIb	1,30 (619)	135,6	-	-	-	-	-	-	-	0,056	-	-	-	-	-
IIc	5,81 (617)	1.525,8	23	-	-	2	25	-	50	2,890	43	14	4	-	11
Normal	1,30 (619)	100-200	-	-	-	-	10	-	90	0,048±0,01	-	-	-	-	-

I_f: Indice de fluorescencia, (619) máximo de emisión

VIII.3.3. Actividad de las enzimas del camino del hemo

Es interesante notar que toda esta familia ha estado expuesta al plomo, lo cual se puso inicialmente de manifiesto al encontrarse actividades de ALA-D reducidas entre un 50 y un 60% en el padre y los dos hijos varones, corroborado por las determinaciones de las plumbemias, que estuvieron cerca del límite superior en el padre, madre y la niña, superándolo en el caso del niño sano y mucho más en el niño porfírico (Tabla VIII.3.).

En ambos pacientes se detectó una actividad de ALA-S elevada entre 6 y 7 veces con respecto a los valores correspondientes a los controles y a los padres.

En cuanto a la PBG-asa, Deaminasa e Isomerasa, es necesario hacer un análisis de cada uno de los familiares por separado y de ambos pacientes. En estos últimos la actividad neta de PBG-asa estaba elevada aproximadamente un 50%, produciendo un patrón de Uroporfirinas en el cual el isómero I era un constituyente muy importante, señalando la existencia de una falla en el complejo enzimático, inmediatamente surge que la misma era el resultado de un aumento de un 35% en la actividad de la Isomerasa, lo cual provoca un desbalance notable en

la relación Deaminasa/Isomerasa, que justifica los patrones a normales de síntesis de Uroporfirinas. Excepto el problema de la exposición al plomo, hasta ahora no habíamos detectado ninguna anomalía en los padres y el hijo varón de 6 años; en el caso del padre, tampoco hubo alteraciones en la PBG-asa y sus componentes; en cambio, en la madre, si bien los valores de actividad neta de PBG-asa y Deaminasa están dentro de los rangos normales, el patrón de Uroporfirinas producido por la PBG-asa muestra una ligera alteración, con un aumento del isómero I, que podría correlacionarse con la deficiencia de un 10% observada para la actividad de la Isomerasa. En el varón sano fue llamativa la disminución del 30% en la actividad de la Deaminasa.

Tabla VIII.3.: Actividades de las enzimas del camino del hemo y contenido de plomo en sangre

CASO	PBG ng/100 ml GR	ALA-S	ALA-D	PBG-asa			DEAMINASA	ISOMERASA	URO-D %	
					%				I	III
					U I	U III				
Ia	30	9,0	0,387	34	8	92	63	31,3	4,01	21,7
Ib	24	9,6	0,776	37	25	75	67	27,5	3,75	22,3
IIa	60	64,7	0,314	50	40	60	90	19,5	4,36	20,5
IIb	24	ND	0,449	29	8	92	48	30,7	ND	21,5
IIc (Pi)	18	57,3	0,770	48	34	66	90	20,5	4,22	18,6
Normal F			0,70410,24	38,7416			81,5111	34,2		
M	< 35	910,5	0,68810,24	34,6318	10	90	73,1313	30,6	4,0010,25	21,8110,5
Niños	< 20		0,86010,20	32,0015			66,74110	30,6		

Las actividades se expresan en unidades enzimáticas por ml GR. Una unidad enzimática se define como la cantidad de enzima capaz de formar 1 nmol de producto en las condiciones standard de incubación.
(*) La URO-D se midió empleando Urogen III (III) y Urogen I (I) como sustratos.
Las condiciones experimentales se indican en Métodos. ND = no determinado.

Finalmente, la actividad de la URO-D determinada empleando como sustratos al Uroporfirinógeno III y al Uroporfirinógeno I, fue normal en todos los casos y con ambos sustratos.

VIII.4. DISCUSION

La fotosensibilidad cutánea en las áreas expuestas, manifestada a temprana edad, la eritrodoncia, hipertrichosis, uroporfinas rojas con un aumento masivo de porfirinas de tipo isomérico I, establecen claramente el diagnóstico de PCE en estos dos pacientes. La eritrodoncia es particularmente importante ya que está ausente en los casos descriptos de PCT infantil (Barnes y col., 1957; Gandolfo y Topi, 1978) y PHE (Piñol Aguadé y col., 1975 a y b; Simon y col., 1977; Czarnecki, 1980).

Como también es característico en la PCE, no hubo aumento en las concentraciones de precursores urinarios, aunque la actividad del ALA-S fue 7 veces más alta que lo normal; sin embargo se ha encontrado que también la Deaminasa fue más activa, lo cual explica entonces que la concentración de precursores, probablemente elevada a raíz del incremento en la actividad del ALA-S, se consume rápidamente por acción de la Deaminasa. Es también importante considerar las actividades relativas de Deaminasa e Isomerasa, en condiciones normales esta relación es del orden de 2 y lleva a la formación del isómero III; sin embargo, en estos pacientes se ha encontrado una disminución en la Isomerasa, asociada a un aumento de la Deaminasa, elevando la relación Deaminasa/Isomerasa a más del doble y llevando a una síntesis aumentada de las uroporfinas de tipo I.

El aumento del ALA-S en la PCE es remarcable, confirma observaciones anteriores (Masuya, 1969; Moore y col., 1978; Batlle y col., 1979) y apoya la idea de que en todas las porfirias, el bloqueo primario de una etapa posterior a la formación de ALA, da lugar a un incremento secundario en la actividad del ALA-S, por un mecanismo de retroinhibición y derepresión (Batlle y col., 1979).

Sabemos que el Km de la PBG-asa es mayor que la concentración fisiológica de PBG, de manera que el aumento en la actividad del ALA-S incrementaría la concentración del pirrol, lo suficiente como para compensar el defecto enzimático primario. Como resultado se forman cantidades excesivas de porfirinas, tanto de la serie I como III, mientras éstas últimas pueden metabolizarse a Protoporfirina, no ocurre lo mismo con la

serie I, que se acumula y da lugar a la típica fotodermatosis. Este es un fenómeno que ya hemos observado en las porfirias cutáneas, en las cuales la actividad de la Deaminasa está invariablemente aumentada (Magnin y col., 1982). Merecen un comentario los datos de PBG-asa de la madre de los pacientes, recordemos que el patrón de Uroporfirinas formado por la PBG-asa mostraba un aumento del isómero I; para una Deaminasa normal, esto reflejaría una ligera deficiencia de la Isomerasa y la posibilidad de que la falla genética derivara de la rama materna; aunque debemos enfatizar que ésta ha sido la única desviación encontrada en todos los parámetros bioquímicos determinados. Es también llamativo que el niño sano, presentó una Deaminasa disminuida en un 30%, lo cual podría deberse a una inhibición por el plomo de la enzima.

Precisamente las plumbemias han indicado que todos los miembros de esta familia están contaminados con el metal, como consecuencia de ello, el padre y los dos hijos varones mostraron un ALA-D significativamente disminuida y es muy posible que la exposición al plomo haya desencadenado la aparición de los síntomas clínicos y bioquímicos de la PCE en el niño de 2 años, ya que hemos observado que los pacientes porfíricos son más sensibles a una intoxicación por plomo que individuos normales, y se ha considerado que en estos casos, el saturnismo sería una enfermedad toxogenética (Batlle y col., 1985).

La URO-D presentó niveles normales en los pacientes y sus familiares, ya sea empleando como sustrato el Uroporfirínógeno III o el I. Esto quiere decir que, si bien la velocidad de decarboxilación del isómero I es menor que la del isómero III, lo cual hace que la enzima actúe preferentemente sobre el último, provocando la acumulación del I cuando está en exceso, como ocurre en la PCE; dado que la enzima no está alterada, el Urogen I formado puede seguir su camino hasta Coprogen I, explicando así las cantidades elevadas de Copro I, además de Uro I que caracteriza al patrón de la PCE. El hecho de encontrar valores de URO-D normales, descarta completamente la posibilidad de una PHE.

VIII.5. CONCLUSIONES

Se ha determinado entonces que en estos pacientes, la falla enzimática primaria consiste en una deficiencia de la I somerasa coexistente con un incremento en la actividad de la Deaminasa, acompañada de un notable aumento del ALA-S; un cuadro similar ha sido observado ya en ganado bovino (Batlle y col., 1979) y en dos pacientes con PCE (Moore y col., 1978). En otros casos, recordemos que el defecto genético era sólo una Isomerasa disminuída (Romeo y Levin, 1969) o una Deaminasa aumentada (Watson y col., 1964). Esto está indicando que en la mayoría de los aspectos, la PCE es fenotípicamente homogénea, pero genéticamente puede ser heterogénea. Esta alternativa podría explicar las diferencias observadas en los fenotipos de PCE, algunos de los cuales muestran por ejemplo una fotodermatosis menos severa y ninguna, moderada o bien compensada anemia, mientras otros sufren de una grave enfermedad hemolítica; o bien un patrón de porfirinas urinarias de tipo PCT (Kench y col., 1953; Eriksen y Seip, 1973; Rimington y With, 1973; Eriksen y Eriksen, 1974; Stenberg y With, 1982), a diferencia del clásico encontrado en estos pacientes.

Finalmente, el conjunto de datos obtenidos permiten establecer claramente un diagnóstico de PCE en ambos pacientes y sólo plantear débilmente la posibilidad de que haya sido transmitida por vía materna.

VIII.6. REFERENCIAS

- Barnes, H.; Frootko, J. & Parnell, J. S. Afr. Med. J. 31 (1957) 342.
- Batlle, A.; Parera, V.; Stella, A. & Wider, E. IV Congreso Inter. de Toxicología (1985) 38.
- Batlle, A.; Wider, E.; Stella, A.M.; Bustos, N. & With, T. Clin. Sci. 57 (1979) 63.
- Czarnecki, D. Arch. Dermatol. 116 (1980) 307.
- Deybach, J.; de Verneuil, H.; Phung, N.; Nordmann, Y.; Puissant, A. & Boffety, B. J. Lab. Clin. Med. 97 (1981) 551.
- Eriksen, L. & Eriksen, N. Scand.J. Clin.Lab. Invest. 33 (1974) 323.
- Eriksen, L. & Seip, M. Clin. Gen. 4 (1973) 166.
- Gandolfo, L. & Topi, G. Z. Klin. Chem. Biochem. 16 (1978) 52.
- Günther, H. Deutsches Archiv für Klinische medizin 105 (1911) 89.
- Heilmeyer, L.; Clotten, R.; Kerp, L.; Merker, H.; Parra, C. & Wetzel, H. Dtsch. Wochenschr. 88 (1963) 2449.
- Kench, J.; Langley, F. & Wilkinson, J. Q. J. Med. 22 (1953) 285.
- Kramer, S.; Viljoen, E.; Meyer, A. & Metz, J. Br. J. Haematol. 11 (1965) 666.
- Lazaro, R.; Salamanca, R. de; Elder, G.; Villaseca, M.; Chinnarro, S. & Jaqueti, G. Br. J. Dermatol. 110 (1984) 613.
- Magnin, P.; Batlle, A.; Wider, E.; Lenczner, J. & Stella, A. Rev. Arg. Dermatol. 63 (1982) 117.
- Masuya, T. Acta Haematol. Jap. 32 (1969) 465.
- Meyer, A. & Smith, R. en: " Metabolic Basis of Inherited Disease" 4th ed. (1978) 1166 (Eds. J. Stanbury, J. Wyngaarden y D. Fredrickson). Mc Graw-Hill, New York.
- Moore, M.; Thompson, G.; Goldberg, A.; Ippen, H.; Seubert, A. & Seubert, S. Int. J. Biochem. 9 (1978) 933.
- Pain, R.; Welch, F.; Woodroffe, A.; Handley, D. & Lockwood, W. Br. Med. J. 3 (1975) 621.

- Piñol Aguadé, J.; Herrero, C.; Almeida, J.; Castellanos, A.; Ferrando, J.; Asprer, J. de; Palou, A. & Giménez, A. Ann. Derm. Syp. 102 (1975 a) 129.
- Piñol Aguadé, J.; Herrero, C.; Almeida, J.; Smith, S. & Belcher, R. Br. J. Dermatol. 93 (1975 b) 277.
- Rimington, C. & With, T. Dan. med. Bull. 20 (1973) 5.
- Romeo, G. & Levin, E. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 63 (1969) 856.
- Schoua, E. & Batlle, A. En preparación.
- Schultz, J. Inaugural dissertation (Med.) Greifswald, (1874).
- Simon, N.; Berko, G. & Schneider, I. Br. J. Dermatol. 96 (1977) 663.
- Stenberg, B. & With, T. Acta Dermatol. (Stockholm) Suppl 100 (1982) 87.
- Watson, C.; Runge, W.; Taddeini, L.; Bossenmaier, I. & Cardinal, R. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 52 (1964) 478.
- Weston, M.; Nicholson, D.; Lim, C.; Clark, K.; McDonald, A.; Henderson, M. & Williams, R. Int. J. Biochem. 9 (1978) 921.
- With, T. Clin. Haematol. 9 (1980) 345.

C A P I T U L O IX

LA HERENCIA EN LA PROTOPORFIRIA ERITROPOYETICA

IX. LA HERENCIA EN LA PROTOPORFIRIA ERITROPOYETICA

IX.1. INTRODUCCION

Recordemos que la PPE es una porfiria hereditaria que se transmite, en el hombre, con un carácter autosómico dominante y se caracteriza bioquímicamente por un aumento en los niveles de Protoporfirina libre en glóbulos rojos, heces y con frecuencia en plasma. La Proto es una porfirina dicarboxílica muy poco soluble en medio acuoso al pH fisiológico que se excreta únicamente en bilis, jamás ocurre excreción urinaria de Proto, ni aún en casos de obstrucción biliar.

El diagnóstico de la PPE se establece en base a la historia clínica, los niveles de Proto en GR y heces; y la fluorescencia plasmática. Por ser una enfermedad hereditaria con una falla primaria a nivel de la formación de hemo es importante estudiar la actividad de la Ferroquelatasa tanto del sujeto porfírico como la de los demás familiares, para poder detectar los casos latentes.

Este defecto enzimático se ha demostrado en varios tejidos de pacientes con PPE, tales como médula ósea (Bottomley y col., 1975; Becker y col., 1976), sangre periférica (De Goeij y col., 1975; Brodie y col., 1977), cultivos de fibroblastos de piel (Bonkowsky y col., 1975; Bloomer y col., 1977; Bloomer, 1980) e incluso hígado (Bonkowsky y col., 1975). Aunque la médula ósea es probablemente el sitio principal de sobreproducción de porfirinas en esta enfermedad (Piomelli y col., 1975), estudios llevados a cabo empleando precursores marcados de la Proto, han señalado una contribución hepática al desorden (Marver y Schmid, 1971; Nicholson y col., 1973) indicando que el hígado juega también un papel muy importante en la PPE (Bloomer, 1971).

Con el objeto de señalar las características clínicas y bioquímicas que presentan los pacientes con PPE y por ser esta porfiria hereditaria, se ha llevado a cabo un estudio clínico y bioquímico de 4 familias de PPE.

IX.2. MATERIALES

Se estudiaron 5 casos de PPE clínicamente manifiestos pertenecientes a 4 familias, de las cuales se investigaron 2 hombres y 4 mujeres.

Se dispone de las historias clínicas completas de todos los pacientes.

IX.3. RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tablas IX.1. a 4. y en las correspondientes Figuras IX.1. a 4. se ilustran los datos de las 4 familias estudiadas.

En la Familia 1 (Tabla IX.1. y Figura IX.1.) además del paciente de 26 años de edad (tez blanca), tenemos otro caso sintomático en su tío. El paciente presentaba sólo sintomatología cutánea; que se inicia precozmente a los 7 años y se manifiesta como fotosensibilidad llegando a ser severa a los 22 años. La crisis ocurrió el 11 de agosto de 1980 mientras estaba practicando alpinismo en la zona montañosa de Bariloche. El paciente refirió que luego de estar expuesto al sol durante una hora desarrolló una sensación aguda de quemadura, pinchazos y prurito. A raíz de ello aparecieron ampollas en las zonas expuestas del rostro, especialmente en la nariz, y manos, que cicatrizaban.

Inmediatamente se trasladó a Buenos Aires, ingresando al Servicio de Dermatología.

En setiembre de 1980 inició tratamiento con protectores solares por vía oral (β -carotenos 20%, 40 mg/día), solatene (30 mg/día) y en forma tópica. Cabe destacar que las lesiones involucionaron sin dejar secuelas.

El paciente ha informado que su padre y hermano no presentan fotosensibilidad ni sintomatología compatible con la enfermedad.

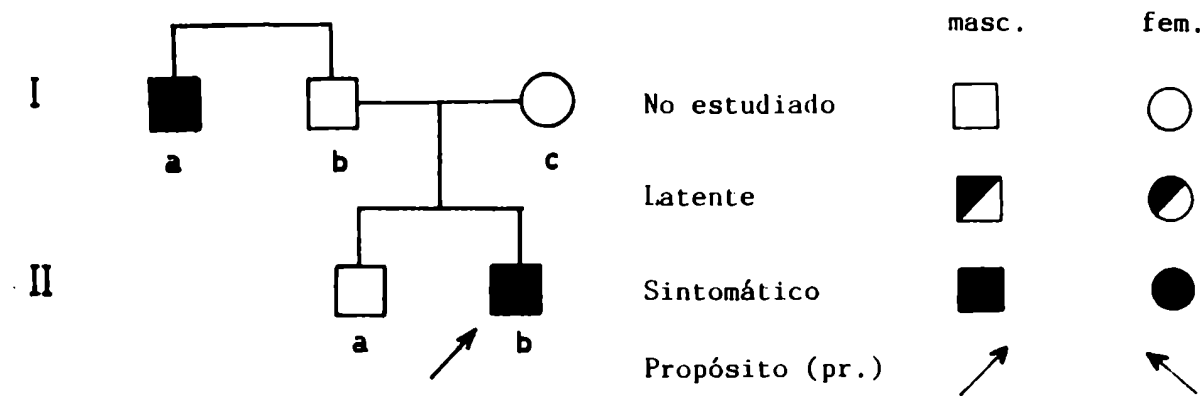
Es importante destacar que actualmente el paciente desarrolla una vida normal gracias al conocimiento de su condición porfírica y una correcta profilaxis consistente principalmente en la protección solar.

Tabla IX.1.: *Parámetros bioquímicos (A) y patrón de excreción de porfirinas en orina y heces (B)*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	ORINA			HECES	SANGRE					
					ALA	PBG	Porf.	Porf.	Plasma Porf.	Proto	ALA-D	PBG-asa	Deam.	Ferroq.
1	Ia.	M	38	si	1,0	1,9	7,0	172,0	44,32	626,5	0,680	25,2	48,90	5,05
	IIb	M	26	si	1,3	2,0	19,4	239,8	35,81	487,0	0,520	22,8	46,79	7,28

ALA y PBG: mg/24 h; Porphirinas urinarias: $\mu\text{g}/24\text{ h}$; Porphirinas fecales: $\mu\text{g/g seco}$; Porphirinas en plasma: $\mu\text{g}/100\text{ ml}$; ALA-D: nmol PBG/ml GR; PBG-asa y Deaminasa: nmol porf/ml GR; Ferroquelatasa: nmol Proto-hemo/ml GR

	P O R F I R I N A S													
	O R I N A						H E C E S							
	Totales	%					Totales	%						
	$\mu\text{g}/24\text{ h}$	8	7	6	5	4	$\mu\text{g/g seco}$	8	7	6	5	4	3	2
Familia 1														
Ia	7,0	-	-	-	-	100	172,0	1	1	4	4	11	15	64
IIb	19,4	-	-	-	-	100	239,8	4	3	-	4	7	27	55
VN	20-250	-	-	-	-	100	30-130	1	2	7	16	10	40	24



La paciente de la Familia 2 (Tabla IX.2. y Figura IX.2.) presentó sus primeros síntomas cutáneos en junio de 1979, cuando sólo contaba con 9 años de edad. La madre de la paciente ha referido que la niña sufría desde muy pequeña de dolores abdominales; y que además estuvieron expuestas al Pb durante largo tiempo, razón por la cual se completaron los estudios bioquímicos (Tabla IX.2.) con la determinación de este metal en sangre. La concentración de Pb para el paciente IIa (32 $\mu\text{g}\%$) y la madre, Ib (57 $\mu\text{g}\%$) no fueron significativamente superiores a los controles normales (hasta 30 $\mu\text{g}\%$). Una vez más observamos que además de la deficiencia enzimática de la Ferroquelatasa, característica de esta enfermedad, hay una inhibición del ALA-D mayor que la correspondiente a la plumbemia determinada, con la concomitante manifestación clínica aguda.

En la Familia 3 (Tabla IX.3. y Figura IX.3.) aparecieron los primeros síntomas en la paciente en setiembre de 1980, los cuales se presentaron como quemaduras e hinchazón en rostro que se extendió luego a brazos y manos. En setiembre de 1981 inició tratamiento con protectores solares administrados pro vía oral. No obstante lo cual no se observó disminución de su fotosensibilidad. En diciembre de 1982 presentó pápulas en empedrado en dorso de manos, infiltración del lecho ungueal, manchas hipercrómicas infiltradas en mejillas y mentón, costras y lesiones erosivas en dorso de nariz y labios sin prurito. Las lesiones tienen una evolución intermitente.

La madre de la paciente ha informado que ningún familiar presenta sintomatología semejante a la de su hija (IIb).

En la niña de la Familia 4 (Tabla IX.4. y Figura IX.4.) también se inició la sintomatología cutánea precoz. Se presentó como una severa fotosensibilidad en dorso de manos y cara a los 2 años de edad; aunque recién a los 7 años fue diagnosticada como PPE. El padre de la paciente ha informado que ningún familiar presenta sintomatología compatible con la PPE.

En la Figura IX.5. se ha graficado la concentración de Proto en GR de los pacientes, observándose que existe un aumento entre 17 y 20 veces respecto de las medias normales.

Tabla IX.2.: *Parámetros bioquímicos (A) y patrón de excreción de porfirinas en orina y heces (B)*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	ORINA			HECES	SANGRE					
					ALA	PBG	Porf.	Porf.	Plasma Porf.	Proto	ALA-D	PBG-asa	Deam.	Ferroq.
2	Ib	F	43	no	1,8	0,9	57,7	159,1	ND	ND	0,137	23,81	59,50	14,95
	IIa	F	9	si	1,9	1,1	25,0	223,4	10,09	102,7	0,227	21,64	39,66	13,86

	P O R F I R I N A S													
	O R I N A							H E C E S						
	Totales	%					Totales	%						
	µg/24 h	8	7	6	5	4	µg/g seco	8	7	6	5	4	3	2
	µg/24 h	8	7	6	5	4	µg/g seco	8	7	6	5	4	3	2
Familia 2														
Ib	57,7	-	-	-	-	100	159,1	1	-	3	4	12	56	24
IIa	25,0	-	-	-	-	100	223,4	-	-	-	-	26	7	67

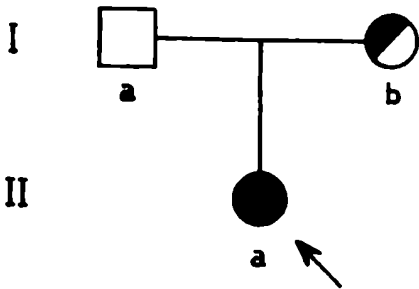


Figura IX.2.: *Pedigrée Familia 2*

Tabla IX.3.: *Parámetros bioquímicos (A) y patrón de excreción de porfirinas en orina y heces (B)*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	O R I N A			HECES		S A M P L E S				Ferro.
					ALA	PBG	Porf.	Porf.	Plasma Porf.	Proto	ALA D	PBG	Porf.	
3	11b	F	4	si	2,0	1,1	24,4	270,1	46,07	699,2	0,630			

	P O R F I R I N A S												
	O R I N A						H E C E S						
	Totales	%					Totales	%					
	µg/24 h	8	7	6	5	4	µg/g seco	8	7	6	5	4	3
	Familia 3												
11b	24,4	-	-	-	-	100	270,1	1	3	-	12	13	23

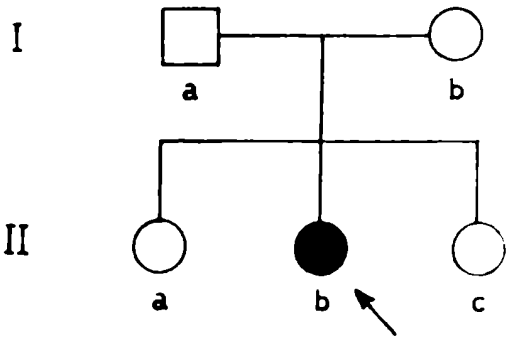


Figura IX.3.: *Pedigrée familia*

Tabla IX.4.: *Parámetros bioquímicos (A) y patrón de excreción de porfirinas en orina y heces (B)*

FAMILIA	CASO	SEXO	EDAD	SIND. CLIN.	O R I N A			HECES	S A N G R E					
					ALA	PBG	Porf.		Plasma Porf.	Proto	ALA-D	PBG-asa	Deam.	Ferroq.
4	prop.	F	7	ai	2,1	0,9	79,8	92,24	20,08	309,6	0,697	29,81	74,52	9,42

	P O R F I R I N A S													
	O R I N A						H E C E S							
	Totales	%					Totales	%						
	µg/24 h	8	7	6	5	4	µg/g seco	8	7	6	5	4	3	2
	Familia 4 prop.	79,8	-	-	-	-	100	92,24	-	-	3	-	14	28

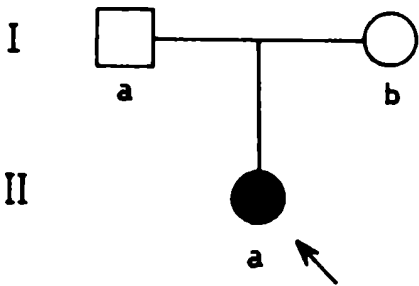


Figura IX.4.: *Pedigrée Familia 4*

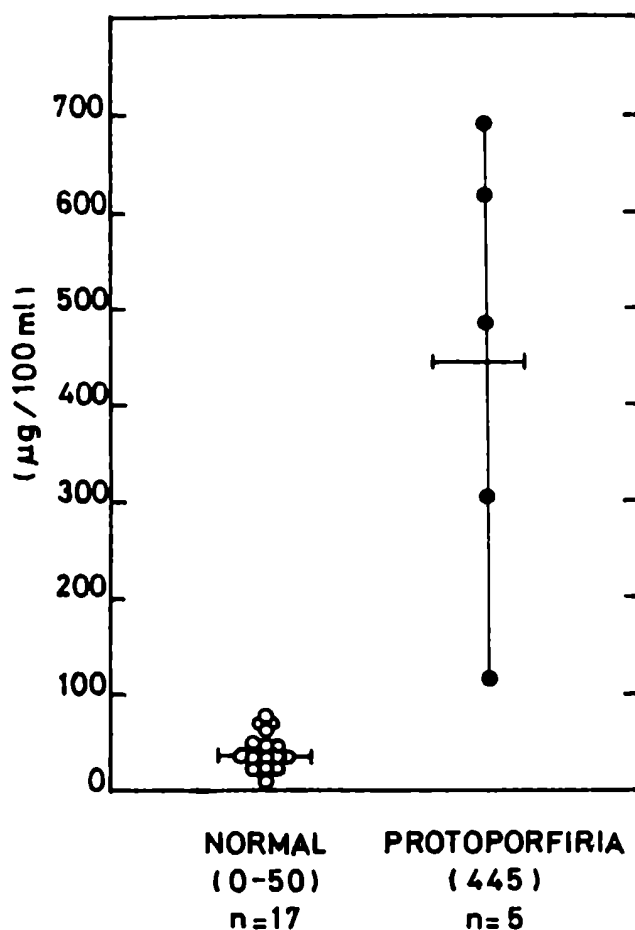


Figura IX.5.: Niveles de Proto libre en GR de pacientes con PPE y controles normales.

El contenido de porfirinas en heces (Figura IX.6.) se encontró aumentado alrededor de 6 veces en comparación con los valores normales, con un patrón característico para PPE es decir revelándose principalmente la presencia de grandes cantidades de Proto.

La actividad de Ferroquelatasa (Figura IX.7.) se ha encontrado reducida en la sangre de los PPE y no se observa que los valores máximos (14,95 nmoles/ml GR) en estos pacientes lleguen al umbral mínimo normal (19 nmoles/ml GR). Sin lugar a dudas, la disminución de la actividad de Ferroquelatasa en la sangre de PPE refleja la lesión genética primaria en esta profiria; estos resultados confirman datos obtenidos en médula ósea, fibroblastos e hígado y están de acuerdo con los

valores reportados por Goeij y col. (1975).

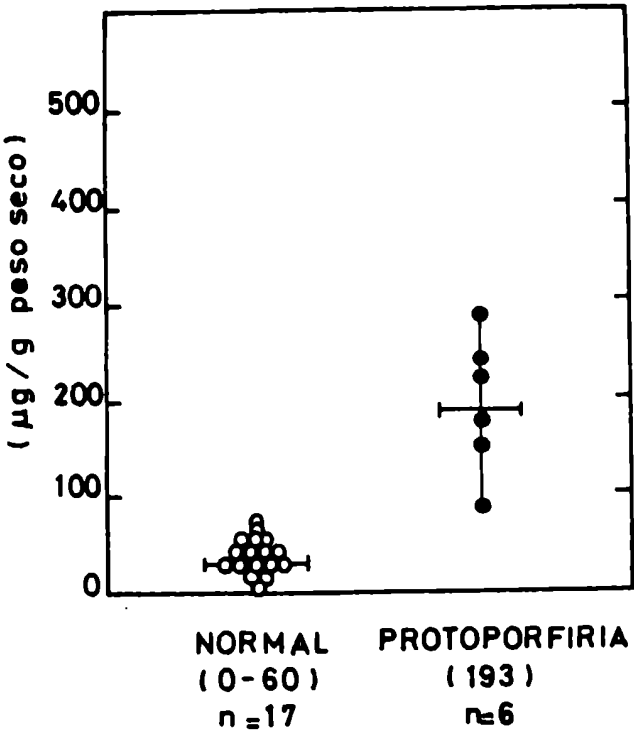


Figura IX.6.: Niveles de porfirinas esterificadas en heces de pacientes con PPE y controles normales.

IX.4. RESUMEN

De estos resultados surge que los niveles de ALA, PBG y porfirinas urinarios fueron normales en los pacientes con PPE mientras que las concentraciones de Proto en GR, plasma y heces en los pacientes se encontró aumentada 9, 8 y 4 veces respectivamente, con respecto a la media normal.

La actividad de Ferroquelatasa en GR estaba reducida en un 16-59% comparada con los controles, revelándose como la lesión genética primaria en la PPE y explicando así las anormalidades bioquímicas y clínicas de esta porfiria.

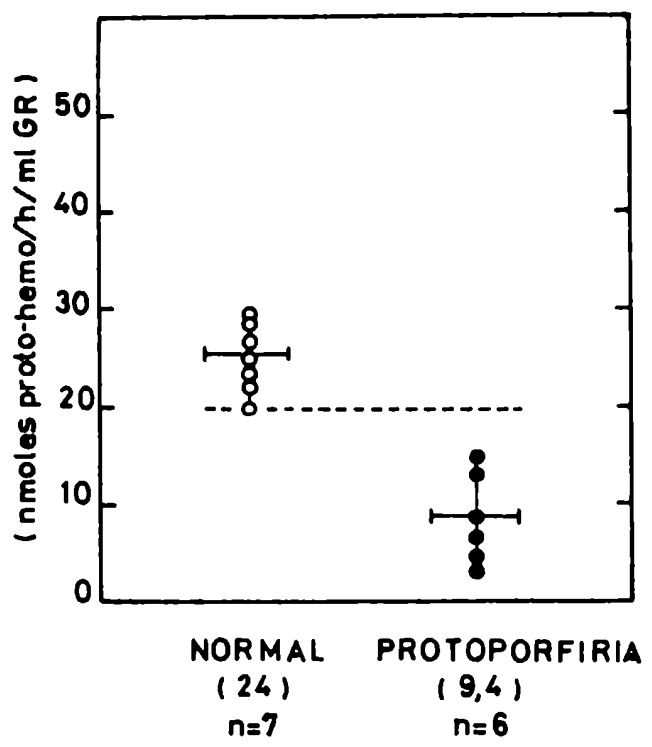
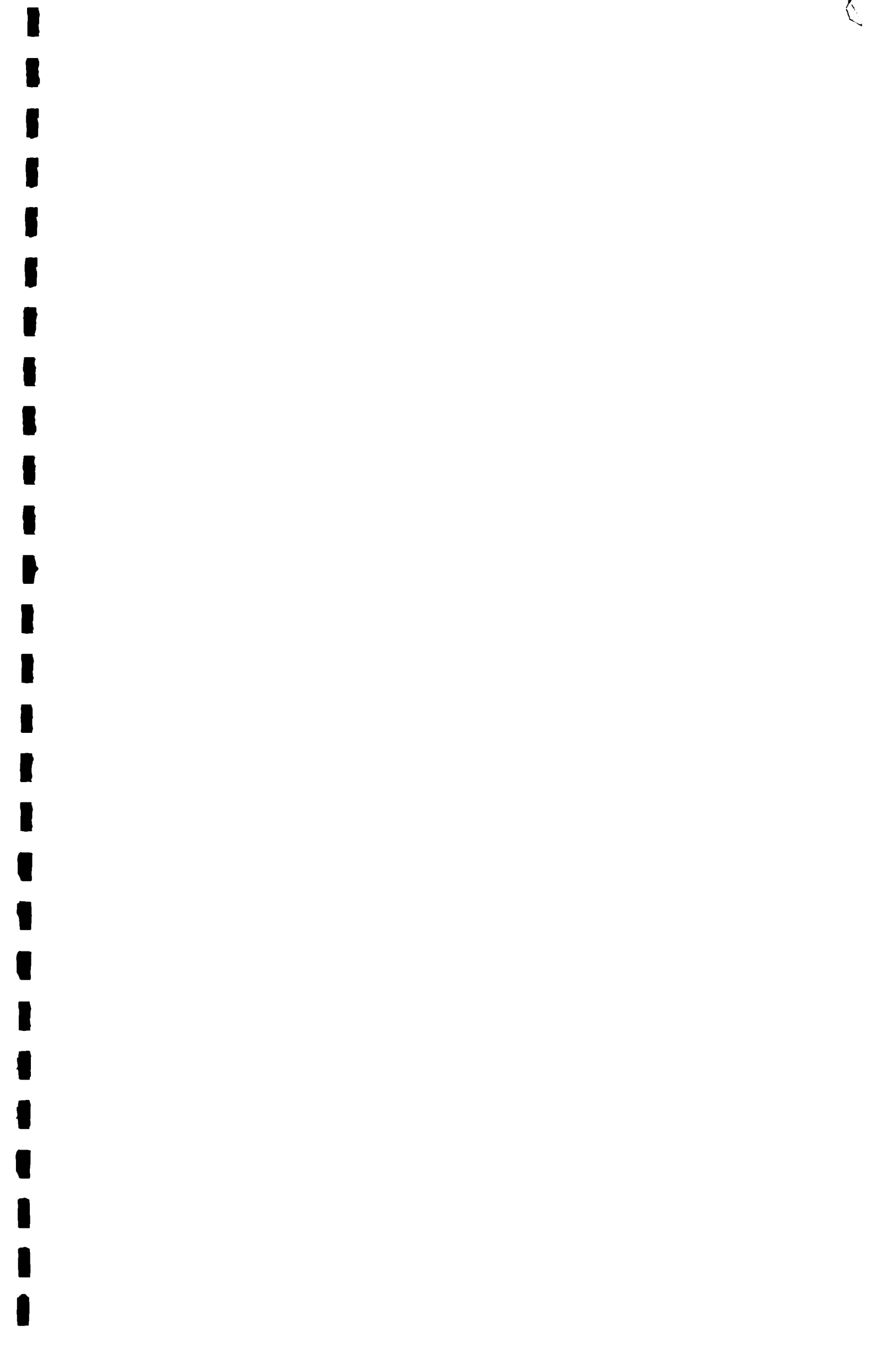


Figura IX.7.: *Actividad de Fe-roquelatasa en GR de pacientes con PPE y controles normales. En línea puntea horizontal se ha marcado el m_inimo valor de actividad para el grupo de controles.*

IX.5. REFERENCIAS

- Becker, D.; Viljoen, J.; Katz, J. & Kramer, S. Br. J. Haematol. 36 (1976) 171.
- Bloomer, J. Yale J. Biology Medic. 52 (1979) 39.
- Bloomer, J. J. Clin. Invest. 65 (1980) 321.
- Bloomer, J.; Brenner, D. & Mahoney, M. Lancet II (1976) 226.
- Bonkowsky, H.; Bloomer, J.; Ebert, P. & Mahoney, M. J. Clin. Invest. 56 (1975) 1139.
- Bottomley, S.; Tanaka, M. & Everett, M. J. Lab. Clin. Med. 86 (1975) 126.
- Brodie, M.; Moore, M.; Thompson, G.; Goldberg, A. & Holti, G. Clin. Exp. Dermatol. 2 (1977) 381.
- De Goeij, A.; Christianse, K. & van Steveninck, I. Europ. J. Clin. Invest. 5 (1975) 397.
- Nicholson, D.; Cowger, M. & Kalinas, J. Clin. Sci. 44 (1973) 135.
- Piomelli, S.; Lamola, A. & Poh-Fitzpatrick, M. J. Clin. Invest. 56 (1975) 1519.
- Scholnik, P.; Marver, H. & Schmid, R. J. Clin. Invest. 50 (1971) 203.



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

INVARIANTES EN ALGEBRAS DE BANACH

POR

FERNANDO DANIEL SUAREZ

DIRECTOR DE TESIS

DR. GUSTAVO CORACH

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR AL TITULO DE DOCTOR EN CIENCIAS MATEMATICAS
1985

1945
xj 2